

rijksuniversiteit gent
fakulteit van de landbouwwetenschappen
academiejaar 1982 - 1983

Instituut voor Zeewetenschappelijk onderzoek
Institute for Marine Scientific Research
Prinses Elisabethlaan 29
8401 Bredene - Belgium - Tel. 059 / 80 37 15

**vergelijkende studie van diverse geografische
rassen van het pekelkreeftje , ARTEMIA,
ter verbetering van zijn gebruik in de
aquakultuur**



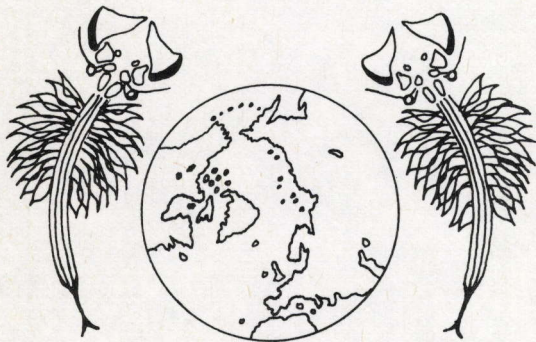
proefschrift ingediend tot het
bekomen van de graad van
doctor in de landbouwwetenschappen
door :

ir. paul vanhaecke

promotor : prof. dr. g. persoone
co - promotor : dr. p. sorgeloos

rijksuniversiteit gent
fakulteit van de landbouwwetenschappen
academiejaar 1982 - 1983

**vergelijkende studie van diverse geografische
rassen van het pekelkreeftje , ARTEMIA,
ter verbetering van zijn gebruik in de
aquakultuur**



proefschrift ingediend tot het
bekomen van de graad van
doctor in de landbouwwetenschappen
door:

ir. paul vanhaecke

promotor : prof. dr. g. persoone
co - promotor : dr. p. sorgeloos

Instituut voor Zeewetenschappelijk onderzoek

Institute for Marine Scientific Research

Prinses Elisabethlaan 29

8401 Bredene - Belgium - Tel. 059 / 80 37 15

aan Marie-Claire en Lynn

DANKWOORD

Bij het voorleggen van dit proefschrift is het mij een aangename taak mijn oprechte dank te betuigen aan alle mensen en instanties die bijgedragen hebben tot het welslagen van deze studie.

In de eerste plaats houd ik eraan mijn promotor, Prof. Dr. G. Persoone, te danken voor alle faciliteiten die hij mij verleende om dit proefschrift in zijn laboratorium te realiseren en voor de belangstelling waarmee hij de evolutie van het onderzoek volgde.

Daarnaast wil ik mijn oprechte dank betuigen aan mijn co-promotor, Dr. P. Sorgeloos, die niet alleen de basis legde voor dit onderzoek doch steeds beschikbaar was voor waardevolle raadgevingen en opbouwende kritiek.

Mijn oprechte dank gaat tevens naar Mevr. A. Cooreman en Mevr. L. Aertsen voor hun bijzondere steun tijdens de praktische uitvoering der experimenten.

Verdere dank ben ik verschuldigd aan Mevr. J. Hertegonne, Mevr. M. Van den Hove, Dhr. G. Uyttersprot en Dhr. F. Persijn die respectievelijk betrokken waren bij het typ-, fotografisch- en tekenwerk.

Mijn kollega's en de personeelsleden van het Laboratorium van Marikultuur wil ik bedanken voor de vriendschappelijke en konstruktieve samenwerking.

Tenslotte wil ik een woord van dank richten tot het Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek dat mij in de mogelijkheid stelde dit wetenschappelijk onderzoek door te voeren.

I N H O U D S T A F E L

Lijst der Figuren	I
Lijst der Tabellen	IV
HOOFDSTUK 1. Inleiding	1
HOOFDSTUK 2. De biogeografie van <u>Artemia</u>	8
2.1. De geografische verspreiding van <u>Artemia</u> -vindplaatsen ...	8
2.2. De verspreidingsvektoren van <u>Artemia</u>	30
2.3. De invloed van het klimaat op de geografische versprei- ding van <u>Artemia</u>	33
HOOFDSTUK 3. Inokulatie en transplantatie van <u>Artemia</u>	46
HOOFDSTUK 4. Ekologie der <u>Artemia</u> -biotopen	56
4.1. Fysische karakteristieken	56
4.2. De abiotische en biotische karakteristieken	59
4.2.1. De saliniteit	59
4.2.2. De ionensamenstelling	60
4.2.3. De pH	63
4.2.4. De temperatuur	64
4.2.5. Het zuurstofgehalte	65
4.2.6. De flora en fauna	66
4.3. De levenscyclus van het pekelkreeftje	69
4.4. De commerciële exploitatie van <u>Artemia</u> -biotopen	73
HOOFDSTUK 5. Genetische karakterisatie en systematische klassifikatie van <u>Artemia</u>	79
HOOFDSTUK 6. Materiaal en algemene methoden	92
6.1. De bestudeerde cystenmonsters van <u>Artemia</u>	92
6.2. Het medium : zeewater	95
6.3. De inkubatie der cysten en oogst der nauplii	96
6.4. De kweek van <u>Dunaliella</u> en de bereiding van de voedselsuspensie	98
6.5. De dekapsulatie der cysten	99
6.6. De bepaling van de lengte der <u>Artemia</u> -larven	101
6.7. Bepaling van het drooggewicht, het asgehalte en de energie-inhoud	102
6.8. De voorstelling en statistische verwerking der gegevens ,	104
HOOFDSTUK 7. Biometrische en energetische kenmerken van cysten en nauplii	109
7.1. De afmetingen der cysten	109
7.1.1. Materiaal en methoden	109
7.1.2. Resultaten en bespreking	114
7.2. Het gewicht en de energie-inhoud der cysten	134

7.3. De afmetingen der nauplii	138
7.4. Gewicht, asgehalte en energie-inhoud van de eerste larvale stadia	144
7.4.1. Instar I-nauplii	144
7.4.2. Het gewichtsverbruik en de energiekonsumptie van niet gevoede nauplii	152
7.4.3. Invloed van de stockeringstemperatuur op het drooggewicht der nauplii	157
7.5. Konklusies in verband met de verbeterde toepassingsmoge- lijkheden in de aquakultuur	159
HOOFDSTUK 8. Ontluikingskarakteristieken der cysten	164
8.1. Inleiding	164
8.2. Materiaal en methoden	165
8.3. Het ontluikingsrendement	169
8.3.1. Het ontluikingsrendement van cysten van diverse geografische rassen en verschillende monsters van dezelfde geografische oorsprong	169
8.3.2. De invloed van de oogst-, verwerkings- en bewaringstechnieken op het ontluikingsrendement der cysten	174
8.3.3. Het drogen en stockeren van gedekapsuleerde cysten ..	179
8.3.3.1. Het drogen van gedekapsuleerde cysten	179
8.3.3.2. De stockering van gedekapsuleerde cysten	184
8.4. De optimalisatie van de ontluikbaarheid der cysten	186
8.4.1. De invloed van de saliniteit van het inkubatie- medium	187
8.4.2. De invloed van de dekapsulatie der cysten	192
8.4.3. De invloed van de temperatuur van het inkubatie- medium	194
8.5. De ontluikingssnelheid	200
8.5.1. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid der cysten	200
8.5.2. De ontluikingssnelheid van diverse <u>Artemia</u> -rassen en - cystenmonsters	205
8.5.3. De invloed van de droog- en stockeringsmethoden op de ontluikingssnelheid	210
8.6. De evaluatie van de ontluikingsopbrengst	215
8.6.1. Het concept ontluikingsopbrengst	215
8.6.2. De optimalisatie van de ontluikingsopbrengst	219
8.7. Konklusies in verband met de verbeterde toepassings- mogelijkheden in de aquakultuur	224
HOOFDSTUK 9. De leefbaarheid van niet gevoede nauplii	227
9.1. De overleving der nauplii in zeewater bij 2 verschil- lende temperaturen	228
9.2. De overleving der nauplii in zoetwater	232
9.3. De stockering der nauplii bij lage temperaturen	235
HOOFDSTUK 10. De groei van <u>Artemia</u>-larven van diverse geografische oorsprong onder standaard-proefomstandigheden	237
10.1. De overleving en groei in een standaard-groeiproef met een levend wier als voeselbron	238

10.2. De overleving en groei in een standaard-groeiproef met een ingerte voedselbron	244
HOOFDSTUK 11. De invloed van temperatuur en saliniteit op de overleving van <u>Artemia</u> -rassen	248
11.1. De preferentie en tolerantie van diverse <u>Artemia</u> -rassen t.o.v. temperatuur en saliniteit	248
11.2. Verdere gegevens in verband met de temperatuurtolerantie van diverse <u>Artemia</u> -rassen	286
11.3. De resistentie van <u>Artemia</u> -nauplii aan plotse temperatuur- en saliniteitsveranderingen	291
HOOFDSTUK 12. Produktiekarakteristieken van diverse <u>Artemia</u> -rassen in functie van de kweektemperatuur	295
HOOFDSTUK 13. Het gebruik van <u>Artemia</u> -nauplii als voedselbron in de aquakultuur	324
13.1. De nutritionele waarde van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische rassen : literatuuroverzicht	324
13.2. Bespreking van de resultaten van het geïntegreerd onderzoeksprogramma "International Study on <u>Artemia</u> " ...	327
13.3. De nutritionele geschiktheid van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong voor larven van de karper (<u>Cyprinus carpio</u> L.)	344
13.4. Konklusies in verband met de verbeterde toepassingsmogelijkheden in de aquakultuur	353
HOOFDSTUK 14. Algemene besluiten	355
1. Het voorkomen van <u>Artemia</u> in de natuur	355
2. De genetische karakterisatie	356
3. Biometrische en energetische kenmerken der cysten en nauplii	356
4. De ontluikingskarakteristieken der cysten	358
5. De overleving en stockering van pas ontloken nauplii	360
6. De groeisnelheid der nauplii van diverse geografische oorsprong	360
7. De invloed van temperatuur en saliniteit op overleving en produktie	361
8. De nutritionele geschiktheid van <u>Artemia</u> -nauplii	362
HOOFDSTUK 15. Samenvatting	365
LITERATUURLIJST	369

LIJST DER FIGUREN

1. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Afrika	10
2. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Australië en Nieuw-Zeeland	11
3. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Noord-Amerika	12
4. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Midden-Amerika	16
5. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Zuid-Amerika	18
6. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Azië	20
7. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Europa	23
8. De distributie van <u>Artemia</u> op wereldschaal	25
9. De vochtigheidstypen van Sri Lanka	42
10. De potentiële distributiearea van <u>Artemia</u> op wereldschaal	44
11. De seizoenale verdeling van de vochtigheid in de Filippijnen .	51
12. De seizoenale verdeling van de vochtigheid in Peru	52
13. Het saliniteitsverloop in een kustlagune	57
14. De anionische samenstelling van diverse <u>Artemia</u> -biotopen	62
15. De ontluiking en vrijzwemmende naupliuslarve	71
16. De postembryonale ontwikkelingsstadia van <u>Artemia</u> (naar Hentschel, 1968)	71
17. Het adult <u>Artemia</u> -mannetje	72
18. Het adult <u>Artemia</u> -wifje	72
19. De kopulatie	72
20. De techniek voor de zuivering van cysten (naar Sorgeloos et al., 1978)	76
21. De zuivering van <u>Artemia</u> -cysten in doorvloei	77
22. De tekening van Schlosser van een mannelijk (A) en vrouwelijk (B) pekelkreeftje (uit Kuenen en Baas-Becking, 1938)	80
23. Dendrogram van de genetische afstanden tussen diverse <u>Artemia</u> - rassen (naar Abreu-Grobois en Beardmore, 1982)	86
24. Verdeling van de diverse "sibling species" van <u>Artemia</u> op wereldschaal	90
25. De ontluiking van cysten in een cilindrokonische glazen buis (A) en een gelaste plasticzak (B)	97
26. Schematische voorstelling van de cysteschaal (naar Morris en Afzelius, 1967)	100
27. Frekwentie-distributie van <u>Artemia</u> -cysten	111
28. De gemiddelde cystenafmetingen van de diverse "sibling species" van <u>Artemia</u>	121
29. Grootte-verdeling van de cysten van Etang de Berre	123
30. Grootte-verdeling van de cysten van Santa Pola geoogst op 2 verschillende tijdstippen	128
31. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en hun gewicht	137
32. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en de volume-index der nauplii	143
33. De korrelatie tussen de diameter van gedekapsuleerde cysten en de lengte der nauplii	143
34. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en het gewicht der nauplii	148
35. Het verbruik van drooggewicht en energie gedurende de ontlui- king en de vroege larvale ontwikkeling der nauplii van diverse geografische oorsprong	162

36. Het ontluikingsrendement van verschillende cystenmonsters van enkele <u>Artemia</u> -rassen	172
37. De invloed van de stockeringsmethode op de ontluiking van gedekapsuleerde cysten na respectievelijk 6 en 18 maanden stockering	185
38. De evolutie van enerzijds de glycerolkoncentratie in de cysten en in het medium en anderzijds de procentuele ontluiking ("breaking") van cysten geïnkubeerd in 3 verschillende NaCl-oplossingen, in functie van de inkubatieduur (naar Clegg, 1964)	189
39. Gemiddelde relatieve verandering van de ontluikbaarheid der cysten van diverse "sibling species" van <u>Artemia</u> in functie van de temperatuur	199
40. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid van <u>Artemia</u> -cysten van Buenos Aires (A), Chaplin Lake (B), San Pablo Bay (C) en Great Salt Lake (D)	202
41. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid van gedekapsuleerde cysten van San Pablo Bay	203
42. De ontluikingskurven voor diverse cystenmonsters van Macau (A) en San Francisco Bay (B)	209
43. De invloed van de drogingscondities op de ontluikingssnelheid van <u>Artemia</u> -cysten geïnkubeerd onmiddellijk na drogen (A) en na 1 maand stockering onder vakuum (B)	212
44. De invloed van de stockeringscondities op de ontluikings-snelheid van <u>Artemia</u> -cysten	214
45. Het ontluikingsrendement en de ontluikingsopbrengst van diverse <u>Artemia</u> -cystenmonsters	218
46. De toename van de ontluikingsopbrengst der cysten van diverse geografische oorsprong na inkubatie bij 5 % of dekapsulatie der cysten	223
47. Grafische uitzetting van de LT50-waarden bij 20°C (A) en 30°C (B) van diverse <u>Artemia</u> -rassen	230
48. Grafische voorstelling van de LT50 (A) en de ET50 (B) van diverse <u>Artemia</u> -rassen in zoetwater	234
49. Voorstelling van de opstelling van de kweekproeven	251
50. Invloed van de voedselhoeveelheid op de overleving van <u>Artemia</u> bij verschillende temperaturen	252
51. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van San Francisco Bay	257
52. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Macau	259
53. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Barotac Nuevo ..	260
54. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Great Salt Lake	264
55. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Chaplin Lake ..	265
56. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Buenos Aires ..	267
57. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Larnaca	270

58. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Barbanera	271
59. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Shark Bay	274
60. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Tuticorin	275
61. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Lavalduc	279
62. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Tientsin	280
63. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het <u>Artemia</u> -ras van Margherita di Savoia	281
64. Het gemeenschappelijk temperatuur- en saliniteitsgebied waarbij de mortaliteit kleiner dan 10 % is	283
65. De overleving van diverse <u>Artemia</u> -rassen bij 34°C en bij 2 saliniteiten	289
66. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van San Francisco Bay in functie van diverse temperaturen ...	302
67. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Macau in functie van diverse temperaturen	302
68. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Great Salt Lake in functie van diverse temperaturen	305
69. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Manaure in functie van diverse temperaturen	305
70. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Galera Zamba in functie van diverse temperaturen	308
71. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Chaplin Lake in functie van diverse temperaturen	308
72. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Buenos Aires in functie van diverse temperaturen	311
73. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Larnaca in functie van diverse temperaturen	311
74. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Barbanera in functie van diverse temperaturen	314
75. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Shark Bay in functie van diverse temperaturen	314
76. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Tuticorin in functie van diverse temperaturen	317
77. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Tientsin in functie van diverse temperaturen	317
78. De biomassaproductie en konversie van het <u>Artemia</u> -ras van Margherita di Savoia in functie van diverse temperaturen	319
79. Het optimale temperatuurinterval voor produktiedoeleinden bij diverse <u>Artemia</u> -rassen	321
80. De korrelatie tussen de overlevingsresultaten van <u>Menidia menidia</u> en de lengte der <u>Artemia</u> -nauplii (naar Beck en Bengtson, 1981)	333
81. Voorstelling van de proefopstelling voor de voederproef met karperlarven	346
82. De korrelatie tussen de volume-index der nauplii (A) en het drooggewicht der nauplii (B) en het gewicht der opgekweekte karperlarven	350

LIJST DER TABELLEN

I. Algemene matrix in verband met de "state of the art" en het marktpotentieel voor de aquakultuur (naar Nash, 1974)	2
II. Bio-ekonomische matrix voor de evaluatie van de waarde van organismen voor de aquakultuur (naar Nash, 1974)	2
III. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Afrika	9
IV. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Australië en Nieuw-Zeeland ..	9
V. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Noord-Amerika	13
VI. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Midden-Amerika	15
VII. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Zuid-Amerika	17
VIII. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Azië	19
IX. De <u>Artemia</u> -vindplaatsen in Europa	21
X. Kwantitatieve verdeling van <u>Artemia</u> -biotopen over de hoofdklimaattypen van Köppen	35
XI. De klimaattypen in functie van de efficiëntie van de neerslag (naar Thornthwaite, 1955)	37
XII. De klimaattypen in functie van de efficiëntie van de temperatuur (naar Thornthwaite, 1948)	38
XIII. Indeling van de <u>Artemia</u> -vindplaatsen volgens de klimaattypen van Thornthwaite	40
XIV. De onderverdeling van 27 <u>Artemia</u> -populaties in 6 "sibling species" (naar Bowen et al., 1978)	85
XV. Lijst van de bestudeerde cystenmonsters van <u>Artemia</u>	93
XVI. Variantie-analyse met 1 faktor	105
XVII. De afmetingen der cysten van diverse geografische oorsprong	115
XVIII. De cystenafmetingen van diverse cystenmonsters van verschillende <u>Artemia</u> -rassen	124
XIX. Resultaten van de statistische analyse van diverse cystenmonsters van Macau	126
XX. De diameter van na inokulatie geproduceerde cysten	130
XXI. De diameter van cysten van verschillende geografische oorsprong in het laboratorium geproduceerd onder gecontroleerde kondities	132
XXII. De diameter van diverse cystenmonsters afkomstig van de San Francisco Bay Area	133
XXIII. Het individueel drooggewicht, asgehalte, organisch gewicht en de energie-inhoud van gedekapsuleerde <u>Artemia</u> -cysten van diverse geografische oorsprong	136
XXIV. De Lengte van instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong	140
XXV. Volume-index van nauplii van diverse geografische oorsprong	141
XXVI. Overzicht van de literatuurgegevens met betrekking tot het drooggewicht, het asgehalte en de energetische inhoud van <u>Artemia</u> -nauplii	145
XXVII. Individueel drooggewicht, asgehalte en organisch gewicht der instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong .	146
XXVIII. De energetische inhoud van instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong	149

XXIX. Procentueel verschil in individueel drooggewicht en individuele energie-inhoud tussen instar I-nauplii en gedekapsuleerde cysten van diverse geografische rassen	151
XXX. Individueel drooggewicht, asgehalte en organisch gewicht van instar II-III-larven van diverse geografische oorsprong	153
XXXI. De energetische inhoud van instar II-III-larven van diverse geografische oorsprong	154
XXXII. Relatief verbruik aan droge stof en energie door <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong gedurende een tijdspanne van 24 uur bij 25°C	156
XXXIII. Evolutie van het individueel drooggewicht van nauplii van 3 geografische rassen van <u>Artemia</u> gestockeerd bij een temperatuur van 2-4°C	158
XXXIV. Tabel van variantie-analyse	168
XXXV. Het ontluikingsrendement van diverse <u>Artemia</u> -cystenmonsters	170
XXXVI. Het ontluikingspercentage van diverse <u>Artemia</u> -cystenmonsters	173
XXXVII. De invloed van de droogmethode op het ontluikingsrendement der cysten	175
XXXVIII. De invloed van de stockeringskondities op de ontluikbaarheid van <u>Artemia</u> -cysten van 2 lokaliteiten	177
XXXIX. Ontluikingsresultaten van gedekapsuleerde cysten die na spoeling gedroogd worden in een "fluidized bed"-droger	180
XL. De invloed van aceton op de ontluikbaarheid van gedekapsuleerde cysten	181
XLI. De invloed van verschillende droogtechnieken op de ontluikbaarheid van met aceton behandelde gedekapsuleerde cysten	182
XLII. De invloed van de stockeringskondities op de ontluikbaarheid van gedekapsuleerde cysten	184
XLIII. De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium op het ontluikingspercentage van de cysten van diverse geografische oorsprong	190
XLIV. De invloed van de dekapsulatie der cysten op het ontluikingspercentage voor diverse geografische rassen van <u>Artemia</u>	193
XLV. De invloed van de inkubatietemperatuur op het ontluikingspercentage van de cysten van diverse geografische oorsprong	197
XLVI. Karakteristieke tijdstippen tijdens het ontluikingsproces voor diverse geografische rassen van <u>Artemia</u> ...	207
XLVII. Karakteristieke tijdstippen tijdens het ontluikingsproces voor diverse cystenmonsters van San Francisco Bay en Macau	208
XLVIII. De invloed van de droogmethode op de ontluikingsnelheid der nauplii in functie van de stockeringsduur	211
XLIX. Karakteristieke tijdstippen tijdens de ontluiking van <u>Artemia</u> -cysten (San Francisco Bay, monster nr. 288-2596) gedurende 1 jaar onder diverse kondities gestockeerd	214

L.	De evaluatie van de ontluikingskwaliteit van diverse <u>Artemia</u> -cystenmonsters aan de hand van 2 verschillende <u>kriteria</u>	217
LI.	De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium en de dekapsulatie der cysten op het individueel drooggewicht der instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong	220
LII.	De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium en de dekapsulatie der cysten op de ontluikingsopbrengst voor diverse geografische rassen van <u>Artemia</u>	222
LIII.	Resultaten (LT50 in h) van de overlevingstesten bij 20° en 30°C	229
LIV.	ET50 en LT50-waarden van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong in zoetwater	233
LV.	Gemiddelde procentuele overleving der nauplii van diverse geografische oorsprong na bewaring bij 2-4°C	236
LVI.	Groei en overleving van diverse <u>Artemia</u> -rassen onder standaardweekomstandigheden	240
LVII.	Groei en overleving van <u>Artemia</u> -larven afkomstig van verschillende cystenmonsters van enkele <u>Artemia</u> -rassen ..	242
LVIII.	Groei en overleving van <u>Artemia</u> -larven afkomstig van cysten geproduceerd na transplantaties en inokulaties en onder laboratoriumomstandigheden	243
LIX.	Overleving, lengtegroei en gewichtstoename der diverse <u>Artemia</u> -rassen	246
LX.	Voedselkwantiteiten verstrekt bij de diverse testtemperaturen (aantal <u>Dunaliella</u> -cellen x 10 ⁶)	253
LXI.	Tabel van variantie-analyse voor de resultaten van het ras van San Francisco Bay	256
LXII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van San Francisco Bay	256
LXIII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Macau	258
LXIV.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Barotac Nuevo	258
LXV.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Great Salt Lake	263
LXVI.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Chaplin Lake	263
LXVII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Buenos Aires	268
LXVIII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Larnaca	268
LXIX.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Barbanera	272
LXX.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Shark Bay	272
LXXI.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Tuticorin	276
LXXII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Lavalduc	276
LXXIII.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Tientsin	278
LXXIV.	Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het <u>Artemia</u> -ras van Margherita di Savoia	278

LXXV.	Overleving (%) van diverse <u>Artemia</u> -rassen en -monsters afkomstig van hetzelfde parentaal materiaal bij 34°C en bij 2 verschillende saliniteiten	287
LXXVI.	Overleving (%) van diverse <u>Artemia</u> -rassen bij 34°C en 2 verschillende saliniteiten	288
LXXVII.	Invloed van de inkubatietemperatuur der cysten op de overleving (%) van <u>Artemia</u> -larven bij 34°C en bij 2 verschillende saliniteiten	290
LXXVIII.	Overleving van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong en verschillende leeftijd bij een abrupte temperatuur- en saliniteitsverandering	292
LXXIX.	De best geschikte voedselregimes (10^6 wiercellen) uitgetest door Bossier (1981)	298
LXXX.	Invloed van de temperatuur en het voedselregime op de produktiekenmerken van San Francisco Bay- <u>Artemia</u>	299
LXXXI.	De voedselkwantiteiten verstrekt bij de diverse temperaturen (aantal <u>Dunaliella</u> -cellen $\times 10^6$)	300
LXXXII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van San Francisco Bay in funktie van diverse temperaturen	301
LXXXIII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Macau in funktie van diverse temperaturen	301
LXXXIV.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Great Salt Lake in funktie van diverse temperaturen	304
LXXXV.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Manaure in funktie van diverse temperaturen	306
LXXXVI.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Galera Zamba in funktie van diverse temperaturen	307
LXXXVII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Chaplin Lake in funktie van diverse temperaturen	309
LXXXVIII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Buenos Aires in funktie van diverse temperaturen	310
LXXXIX.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Larnaca in funktie van diverse temperaturen	312
XC.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Barbanera in funktie van diverse temperaturen	313
XCI.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Shark Bay in funktie van diverse temperaturen	315
XCII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Tuticorin in funktie van diverse temperaturen	316
XCIII.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Tientsin in funktie van diverse temperaturen	318
XCIV.	Produktiekaracteristieken van het <u>Artemia</u> -ras van Margherita di Savoia in funktie van diverse temperaturen	320
XCV.	Overleving van verschillende vis- en crustaceëenlarven gevoed met <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong	330
XCVI.	Groei van verschillende vis- en crustaceëenlarven gevoed met <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong	331
XCVII.	Aminozuursamenstelling van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong	335

XCVIII. Het vetgehalte en de vetzuursamenstelling van <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong	336
IC. Resultaten van de biometrische, biochemische en nutritionele karakterisatie van diverse monsters afkomstig van de San Francisco Bay-area (naar Léger <u>et al.</u> , 1983b)	338
C. De concentratie aan gechlorineerde koolwaterstoffen in <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong	340
CI. Het gehalte aan metalen in <u>Artemia</u> -nauplii van diverse geografische oorsprong (naar Olney <u>et al.</u> , 1980)	342
CII. Overleving en gewicht der karperlaryen opgekweekt met nauplii van diverse geografische oorsprong	348
CIII. Overleving en gewicht der karperlarven opgekweekt met nauplii gestockeerd bij 3°C	348
CIV. Korrelaties tussen de biometrische kenmerken van <u>Artemia</u> -cysten en -nauplii en de groei van karperlarven	351
CV. Bio-ekonomische evaluatie van het gebruik van specifieke <u>Artemia</u> -cystenmonsters van diverse geografische oorsprong voor karperlarven	352

HOOFDSTUK 1. INLEIDING

De landbouw heeft reeds eeuwen geleden de jacht verdrongen bij de voedselvoorziening van de mens. Voor het aquatisch milieu daarentegen wordt de belangrijkste bijdrage van dierlijke proteïnen nog steeds geleverd door de visvangst. Hoewel de aquakultuur, het aquatisch equivalent van de landbouw, reeds toegepast werd door de Macedoniërs (palingweek) en de Romeinen (oesterkweek) (Bardach et al., 1972 ; Kinne en Rosenthal, 1977) is het slechts sinds een paar decennia dat de min of meer gecontroleerde kweek van aquatische organismen als voedselbron enig belang verworven heeft op wereldschaal. In 1966 bedroeg het aandeel van de aquakultuur, met een produktie van ongeveer 1 miljoen ton, nog geen 2 % van de totale oogst van aquatische organismen (Pillay, 1979). Tussen 1973 en 1975 was de jaarlijkse aquakultuurproduktie echter reeds gestegen van 5 miljoen tot ongeveer 6 miljoen ton, wat respectievelijk 7,6 en 9,1 % van de visserij betekende (Kinne en Rosenthal, 1977). Volgens Pillay (1979) mag voor de aquakultuur een verdubbeling in produktie verwacht worden tussen 1975 en 1985. De produktiecijfers van 1979 en 1980, die reeds de 8 miljoen ton overschreden, bevestigen deze trend (Pillay, 1983). Tijdens dezelfde periode zou de toename van de visvangst slechts 5 % bedragen (Kinne en Rosenthal, 1977). Bovendien blijkt de opbrengst van de oceanen gelimiteerd te zijn door de eskalatie van de kosten der visserij, de overexploitatie van sommige visserijgebieden en de legale afbakening van de visserijgrenzen (Kinne en Rosenthal, 1977 ; Sindermann, 1979 ; Pillay, 1983).

Het belang van de aquakultuur als voedselbron mag echter niet overschat worden. Zo zou de totale proteïnenproduktie van de aquakultuur in 1984 ongeveer 10 tot 12 % bedragen van de visserijopbrengst en slechts 1 % vertegenwoordigen van de totale wereldproduktie (Kinne en Rosenthal, 1977). Het belang van de aquakultuur situeert zich echter vooral hierin dat zij grotendeels gekoncentreerd is in ontwikkelingslanden die slechts over zeer geringe kwantiteiten dierlijke proteïnen beschikken. Zo is ongeveer 80 % van de aquakultuurproduktie gesitueerd in Azië en het Verre Oosten (Rabanal, 1974). Dit impliceert dat de ontwikkeling van de aquakultuur in deze landen niet alleen een direkte verbetering van de voedingstoestand van de bevolking tot gevolg heeft, doch eveneens via de uitvoer van kommerciële hoogwaardige produkten de handelsbalans in gunstige zin kan beïnvloeden.

Tabel I. Algemeen matrix in verband met de "state of the art" en het marktpotentieel voor de aquakultuur (naar Nash, 1974)

[illegible]

Tabel II. Bio-ekonomische matrix voor de evaluatie van de waarde van organismen voor de aquakultuur (naar Nash, 1974).

Controlled spawning possible	5	5	5	4	4	2	1	3	1	5	5	4	4	1	1	1	2	4	1	3	1	2	4	1
Simple larval development achieved	5	5	5	5	5	4	5	5	2	5	5	5	2	1	1	1	3	5	3	3	5	3	4	1
Mass-produced in hatchery	5	5	5	4	3	1	4	4	1	5	5	5	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	4	1
Fast growth rate potential	5	5	4	4	4	3	4	4	4	5	5	4	4	4	5	5	4	4	5	5	5	4	3	3
Satisfactory feeds known	5	4	4	3	3	1	3	3	3	5	5	3	3	1	2	1	5	3	3	5	5	3	3	2
Commercial feeds available	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	5	1	1	1	1	3	1	1	2	1	1	1	1	1
High conversion efficiency	2	2	2	2	2	3	3	3	3	4	5	4	3	2	4	4	3	3	5	5	5	3	2	1
Hardy in captivity	5	5	3	3	3	5	5	3	3	5	5	5	5	3	3	3	5	2	3	5	5	2	3	3
High disease resistance	4	4	4	4	4	4	3	4	3	5	4	4	4	3	3	3	4	2	3	4	4	3	2	4
High density potential	5	5	5	5	4	5	3	3	5	5	4	4	4	3	4	4	4	5	5	5	4	3	3	5
Farming systems developed	5	5	3	3	3	1	4	2	1	5	4	4	4	1	1	3	5	1	1	5	5	1	3	4
High price range	5	2	4	4	4	1	4	5	1	5	5	3	2	1	4	4	5	2	2	5	1	4	5	3
High market potential U.S.	5	1	5	5	5	2	5	5	1	5	5	3	1	1	5	5	4	3	3	2	1	3	5	5
High market potential foreign	5	5	5	5	5	3	5	5	3	5	5	4	4	4	5	4	4	4	5	5	5	5	5	3
Matrix total	62	54	55	52	51	36	49	50	32	65	67	53	42	27	40	55	47	37	56	48	38	47	37	
	Oysters	Mussels	Clams	Scallops	Abalone	Crabs	Shrimps	Lobster	Krill	Brinc shrimp	Salmon	Flatfish	Mullet	Rabbitfish	Dolphinfish	Pompano	Yellow-tail	Anchovy	Herrings	Eels	Milkfish	Octopus	Turtles	Bloodworm

De aquakultuur biedt ruime mogelijkheden zowel voor wat het plant-aardig leven betreft als voor het dierlijk leven. In de aquatische flora kunnen we mikroalgen, zoals Spirulina en Chlorella, en makroalgen zoals Porphyra en Undaria onderscheiden als aquakultuurvertegenwoordigers (Bardach et al., 1972 ; Soeder, 1980 ; Nose, 1983). Met betrekking tot de aquatische fauna werden vooral mollusken, in het bijzonder oester- en mosselsoorten, crustaceeën, vooral Penaeus- en Macrobrachium-soorten, en vissen, met als belangrijkste vertegenwoordigers de zalmachtigen, de karperachtigen, Tilapia sp ., de paling, Mugil sp . en Chanos chanos geproduceerd. (Bardach et al., 1972 ; Bell en Canterbury, 1976 ; Brown en Gratzek, 1980). Daarnaast zijn er echter nog talrijke aquatische soorten die op beperkte schaal in de aquakultuur gekweekt worden of die zich nog in een experimenteel stadium bevinden voor aquakultuurtoepassing. Deze organismen vertonen echter verschillende karakteristieken met betrekking tot de marktwaarde, de kweekbiologie en -technologie en de produktiemogelijkheden.

Net zoals bij de ontwikkeling van de landbouw het geval geweest is, dient dus ook voor de aquakultuur een gefundeerde selectie gemaakt te worden van de meest geschikte species. In dit verband stelde Nash (1974) een bio-ekonomische matrix op ter kwantificering van het belang van diverse organismen voor de aquakultuur.

De belangrijkste criteria, bij de opbouw van deze matrix zijn de trofische efficiëntie, het reproductiegedrag in de natuur en in gevangenschap, de groei en biomassa-produktie en parameters in verband met de levenscyclus (Tabel I). In deze matrix worden de eerste 3 plaatsen ingenomen door achtereenvolgens de oesters, de mosselen en het pekelkreeftje, Artemia. In een tweede klassering met betrekking tot de "overall state-of-the-art and market potential of aquaculture" (Tabel II) rangschikt hij Artemia op de tweede plaats na de zalm. Volgens Sorgeloos (1980) kan de totale score van Artemia opgewaardeerd worden sedert de vondst van goedkope afvalprodukten als voedselbron voor het pekelkreeftje. In elk geval is het duidelijk dat Artemia zoniet het belangrijkste, toch zeker één van de belangrijkste organismen is voor de verdere ontwikkeling van de aquakultuur. Gezien Artemia echter, op enkele uitzonderingen na (Abonyi, 1915 ; Bradbury, 1971 ; Dumont, 1979) niet rechtstreeks aangewend wordt voor menselijke konsumptie, kan men zich afvragen waar het belang van Artemia zich situeert.

De belangrijke plaats die Artemia inneemt in de aquakultuur vindt haar oorsprong in het feit dat de jonge larvale stadia van de meeste mariene en diverse zoetwaterorganismen gedurende een bepaalde tijd levend voedsel moeten toegediend krijgen. Dit fenomeen is verbonden met het leven in een aquatisch milieu waar voor de initiële voeding praktisch steeds van planktonisch voedsel gebruik gemaakt wordt. Het vormt tevens een fundamenteel onderscheid tussen de aquakultuur en de veeteelt; waarbij voor laatstgenoemde teelt, de dieren gedurende de ganse levenscyclus kunnen gekweekt worden met levensloze diëten. Nu is het pekelkreeftje een zeer geschikte en in vele gevallen de enige beschikbare voedselbron voor de kweek van vis- en crustaceënlarven. Volgens Kinne (1977) is het zelfs zo dat "...more than 85 % of the marine animals cultivated thus far have been offered Artemia salina as food source, either together with other foods or, more often as sole diet". Bovendien is het gebruik van Artemia in de praktijk zeer eenvoudig daar de cysten of "Dauereier" van het pekelkreeftje jarenlang in droge toestand kunnen bewaard worden zonder hun leefbaarheid te verliezen. Het volstaat de cysten onder gunstige omstandigheden te hydrateren in zee-water om na 1 à 2 dagen de vrijzwemmende nauplii te bekomen. Dit betekent dat, in tegenstelling tot alle andere levende voedsels, zowel het tijdrovende verzamelen der organismen in de natuur of het veelal kostelijke onderhoud van stockkulturen hier overbodig geworden is.

Het is dan ook begrijpelijk dat de vraag naar Artemia, als nutritioneel geschikt en gemakkelijk te produceren voedsel, de laatste decennia parallel met de expansie van de aquakultuur sterk toegenomen is. Het cystenverbruik in aquakultuurkwekerijen werd voor 1981 reeds op 60 ton geschat (zie Sorgeloos, 1983). Tot voor enkele jaren werd het gebruik van Artemia-nauplii om economische redenen echter in vraag gesteld. De aquakultuur werd immers gekonfronteerd met een toenemende cystenschaarste met als gevolg een wanverhouding tussen prijs en kwaliteit (Bardach et al., 1972 ; Asean, 1977 ; Glude, 1978a,b ; Smith et al., 1978). Dit tekort aan cysten was te wijten aan het feit dat de commerciële cysten-exploitatie beperkt was tot de zoutpannen in de baai van San Francisco, het Great Salt Lake te Utah en enkele zoutmeren in de provincie Saskatchewan in Canada ; dit ondanks het feit dat reeds in 1975 meer dan 50 verschillende Artemia-vindplaatsen bekend waren (Sorgeloos et al., 1976). Deze problematiek kreeg dan ook de nodige aandacht in aquakultuurkringen en leidde tot diverse aanbevelingen in kongresresoluties :

- "5 th Interdisciplinary Conference on Marine Biology" (Princeton, New Jersey - USA, 1967)"... there is a need to survey the whole range of Artemia from different geographical localities and to tabulate their various characteristics (Shelbourne, in Provasoli, 1969).
- "First session of the FAO-Advisory Committee on Marine Resources Research/Working Party on Aquaculture" (Rome, Italië, 1972)"... a fuller exploration and exploitation of the world's resources of Artemia for aquaculture purposes were considered to be of special importance" (FAO, 1972)
- "FAO Technical Conference on Aquaculture" (Kyoto - Japan, 1976)
"There are over 60 strains of Artemia salina worldwide and many unexploited resources exist. It was suggested that FAO should assist in the collection of information on such resources. Further studies on the biology and ecology of Artemia should be undertaken to provide the basis for more efficient production and exploitation in natural and artificial environments".

Gezien het bestaan van talrijke niet geëxploiteerde biotopen is het dus duidelijk dat het tekort aan Artemia-cysten in feite een artificieel verschijnsel was (Sorgeloos, 1979 a) Vanaf 1978 werd een duidelijke kentering ten gunste merkbaar, enerzijds door de exploitatie van Artemia-cysten in vindplaatsen in Argentinië, Australië, Canada, Frankrijk, Indië, Spanje en de Volksrepubliek China, anderzijds door de produktie van cysten na inokulatie in Brazilië. Momenteel zijn er reeds een achttal kommercieel geëxploiteerde Artemia-biotopen, die een jaarlijkse produktie van meer dan 1 ton opleveren (Sorgeloos, 1983).

Behalve voor de 2 Amerikaanse rassen uit San Francisco Bay en Great Salt Lake is echter weinig tot niets bekend omtrent de kenmerken van de andere geëxploiteerde rassen. Dit is evenmin het geval voor de geografische rassen van de ongeveer 300 niet kommercieel geëxploiteerde Artemia-biotopen, die verspreid voorkomen over de 5 continenten. De geografische isolatie van deze biotopen en de specifieke abiotische en biotische kondities die er heersen kunnen nochtans geleid hebben tot diverse genotypes en fenotypes met specifieke biologische, morfologische, chemische en fysiologische karakteristieken. Genetische studies hebben inderdaad reeds aangetoond dat er minstens 5 verschillende "sibling species" van Artemia bestaan die reproductief van elkaar geïsoleerd zijn

(Clark en Bowen, 1976 ;Bowen et al.,1978 ;Abreu-Grobois en Beardmore,1982).

Met het oog op het toenemend gebruik van Artemia-rassen van diverse geografische oorsprong in de aquakultuur,dringt een grondige vergelijkende studie van de karakteristieken van de diverse geografische rassen van Artemia zich op. Dergelijke studie kan inderdaad leiden tot :

- een betere fundamentele kennis van de biologie van Artemia ;
- het achterhalen van het genotypisch en fenotypisch karakter van diverse karakteristieken;
- een betere karakterisatie van de waarde der diverse Artemia-rassen voor aquakultuurdoeleinden;
- de selectie van specifieke Artemia-rassen voor welbepaalde aquakultuurdoeleinden en bijgevolg de optimalisatie van het gebruik van Artemia in de aquakultuur.

Gezien deze lakune in de fundamentele en toegepaste kennis van Artemia was het de bedoeling van deze studie de diverse geografische rassen van Artemia zo grondig mogelijk te karakteriseren. Daartoe werd in de eerste plaats aan de hand van een uitgebreide literatuurstudie gepoogd een inzicht te verwerven in de geografische distributie van Artemia en de factoren die het verspreidingspatroon bepalen, de ekologie van de Artemia-biotopen en de ontwikkeling van het genetisch onderzoek van de diverse Artemia-rassen. Voor wat het experimenteel gedeelte betreft, werd ons al vlug duidelijk dat gezien de complexiteit van dergelijke karakterisatiestudie, die genetische, biologische, fysiologische, chemische en nutritionele aspecten omvat, een multidisciplinaire aanpak nodig is. In dit verband zijn we met een 6-tal instituten¹ tot een effectieve samenwerking gekomen, die geresulteerd heeft in het onderzoeksprogramma "International

¹ Environmental Research Laboratory
Environmental Protection Agency -
Narragansett
Rhode Island 02882, USA

Department of Food Science and
Technology,
Nutrition and Dietetics
University of Rhode Island
Kingston, Rhode Island 02881, USA

The University of Texas
Marine Science Institute
St.-Croix Marine Station
US Virgin Islands, USA

Department of Genetics
University College of Swansea
Swansea, SA2 8PP, U.K.

Instituto de Acuicultura de
Torre de la Sal
Ribera de Cabanas
Castellon, Espana

Instituto di Genetica
Universita di Milano
20133 Milano,
Italy

Study on Artemia", gecoördineerd door het Artemia Reference Center. Naast de vaststellingen en besluiten van ons eigen experimenteel onderzoek zullen in dit werk eveneens de voornaamste bevindingen van dit ISA-programma besproken worden.

Tenslotte zullen enkele procedures en technieken naar voor gebracht worden die kunnen leiden tot een verbeterde cysten kwaliteit en een meer economisch verantwoord verbruik van de nog steeds beperkte en kostbare (+ 2500 BF/kg) voorraad cysten.

HOOFDSTUK 2. DE BIOGEOGRAFIE VAN ARTEMIA

2.1. De geografische verspreiding van Artemia-vindplaatsen

Het pekelkreeftje kent een wijde verspreiding in zoutmeren, kust-lagunes en zoutwinningsgebieden over de 5 continenten. Reeds in 1915 kon Abonyi een lijst opstellen met 80 Artemia-vindplaatsen in 21 verschillende landen. Later volgden minder uitgebreide distributielijsten van Artom (1922) - 18 vindplaatsen ; Stella(1933)- 28 vindplaatsen en Barigozzi (1946) - 29 vindplaatsen. De meest recente overzichtslijst van Artemia-vindplaatsen werd gepubliceerd door Persoone en Sorgeloos (1980). Deze lijst omvat 243 lokaliteiten verspreid over 48 landen.

Uitgaande van een grondige literatuurstudie en aan de hand van briefwisseling en mededelingen aan het Artemia Reference Center hebben wij een lijst kunnen opstellen van de natuurlijke vindplaatsen van Artemia (zie Tabellen III, IV, V, VI, VII, VIII en IX). Onder natuurlijke vindplaatsen verstaan wij de permanente Artemia-biotopen die al dan niet na een transplantatie van Artemia ontstaan zijn. De biotopen waarbij Artemia na een inokulatie slechts gedurende een gedeelte van het jaar voorkomt, worden dus niet in beschouwing genomen (voor meer details : zie Hoofdstuk 3). Hierbij werd bij elke vindplaats melding gemaakt van de meest recente referenties of mededelingen die evidentie opleverden omtrent het voorkomen van Artemia op de betreffende plaats. Deze referenties en mededelingen, onder genummerde vorm weergegeven in de Tabellen, zijn als voetnoot onder Tabel IX samengevat. Naast het land van oorsprong en de lokaliteit werden, in zoverre dit mogelijk was, de geografische coördinaten van elke vindplaats opgegeven. Voor de bepaling van de coördinaten werd in de eerste plaats gebruik gemaakt van gegevens voorzien in de literatuur en bekomen uit briefwisseling. Ontbrekende coördinaten werden verder opgespoord in de "University Atlas (1972)" en de "Times Atlas of the World" Vol. I-V (1957). Voor enkele lokaliteiten was het echter niet mogelijk de exakte geografische ligging te achterhalen. In aansluiting met de respektievelijke tabellen is de geografische distributie van Artemia voorgesteld in de Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6 en 7. Fig. 8 tenslotte geeft de verspreiding van Artemia op wereldschaal weer.

Tabel III. De Artemia-vindplaatsen in Afrika

Land	Lokalteit	Koördinaten	Referenties
Algerije	Chegga Oase	34°29'N - 05°53'O	111
	Chott Djeloud	34°03'N - 06°20'O	111
	Chott Ouargla	31°57'N - 05°20'O	12, 24
	Dayet Morselli	35°30'N - 00°46'W	24
	Gharabas Lake	35°35'N - 00°25'W	111
	Sebket Djendli	35°43'N - 06°32'O	111
	Sebket Ez Zemouk	35°53'N - 06°33'O	111
	Sebket Oran	35°32'N - 00°48'W	111
	Tougourt	33°06'N - 06°07'O	73
Canarische eilanden	Janubio, Lanzarote	28°56'N - 13°50'W	63
Egypte	Wadi Natrun	30°10'N - 30°27'O	102
	Solar Lake	29°10'N - 34°50'O	24, 37, 38
Kenia	Elmenteita	00°27'Z - 36°15'O	101
Libië	Mandara	26°40'N - 13°20'O	20, 73
	Ramba-Az-Zallaf (Fezzan)	27° N - 13° 0	83
	Ouem el Mâ	26°41'N - 13°22'O	20, 73
	Trouna	26°50'N - 13°30'O	20
	Gabr Aoûn (Fezzan)	27° N - 13° 0	20, 73, 81
Madagaskar	Salins de Diego Suarez	12°19'Z - 49°17'O	113, 130
Marokko	Larache	35°12'N - 02°20'W	63
	Moulaya estuarium	35°07'N - 02°20'W	111
	Oued Ammafatma	28°18'N - 12°00'W	73
	Oued Chebeica	28°25'N - 11°50'W	73
	Sebket Bon Areg	35°10'N - 02°50'W	111
	Sebket Zima	32°05'N - 08°40'W	111
Mozambique	Lagua Quissico	24°41'Z - 34°46'O	40
Niger	Teguidda In Tessoun	17°26'N - 06°39'O	102
Senegal	Dakar	14°34'N - 17°29'W	102
	Lake Kayar	14°55'N - 17°11'W	102
	Lake Retba	14°50'N - 17°20'W	73
	Chott Ariana	36°54'N - 10°18'O	44
Tunesië	Chott El Djerid	33°42'N - 08°26'O	111
	Sebket Kowezia	36°26'N - 09°46'O	111
	Sebket Sidi el Hani	35°31'N - 10°27'O	111
	Coega Salt Flats	33°46'Z - 25°40'O	139
Zuid-Afrika	Swartkops	33°52'Z - 25°36'O	139

Tabel IV. De Artemia-vindplaatsen in Australië en N-Zeeland

Land	Lokalteit	Koördinaten	Referenties
Nieuw Zeeland	Lake Grassmere	41°38'Z - 174°05'O	94
Queensland	Bowen	20°00'Z - 148°16'O	56,80
	Port Alma	23°22'Z - 150°32'O	56, 44, 80
West-Australië	Dampier	20°35'Z - 116°51'O	56
	Lake Mc Leod	23°59'Z - 113°40'O	56
	Port Hedland	20°25'Z - 118°35'O	56
	Rottnest Island	32°00'Z - 115°27'O	56, 44, 80, 86
	Shark Bay	25°15'Z - 113°20'O	56,80
Zuid-Australië	Dry Creek, Adelaide	34°55'Z - 138°20'O	26, 48, 56, 80

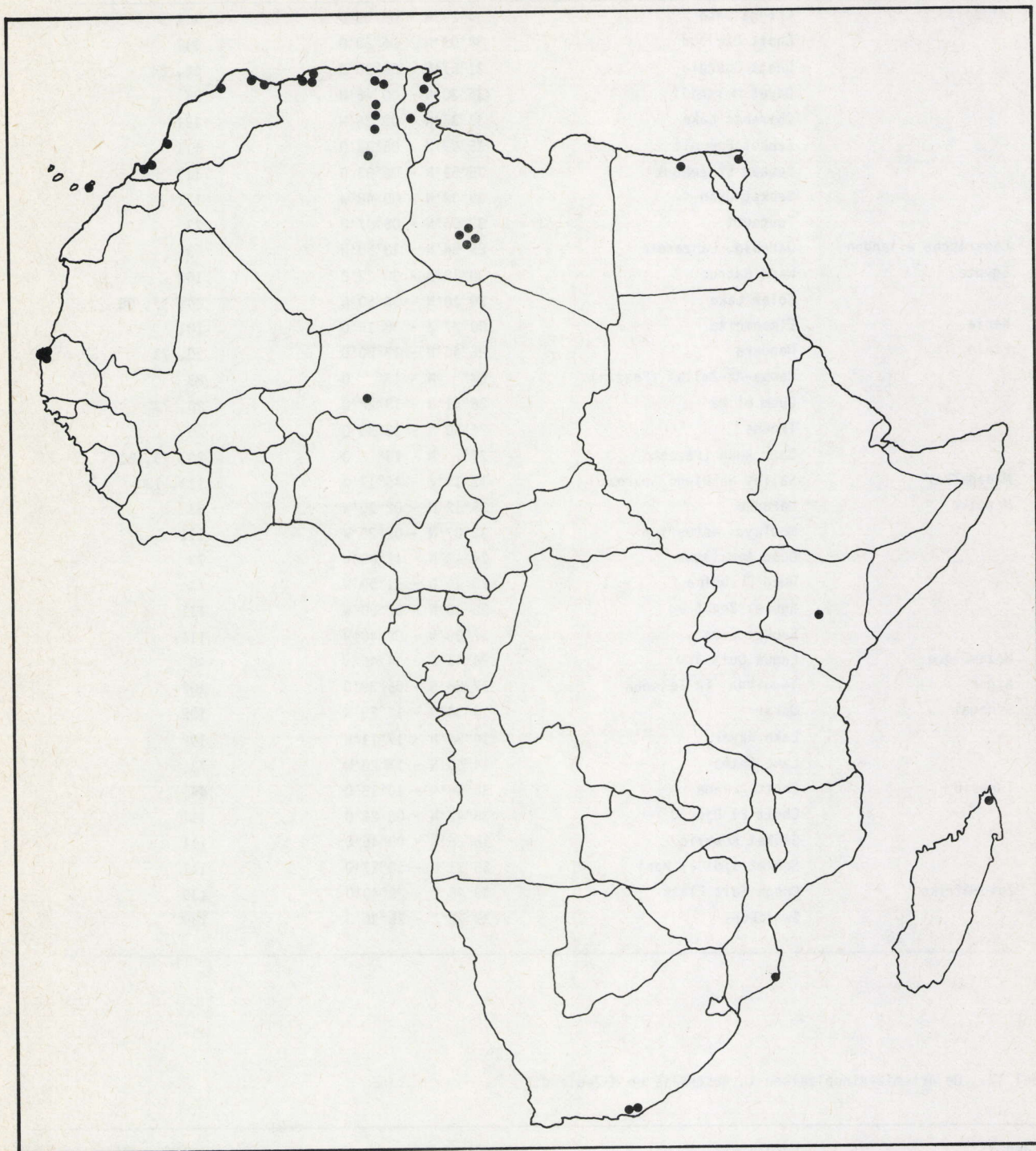


Fig.1. De Artemia-vindplaatsen in Afrika



Fig.2. De Artemia-vindplaatsen in Australië en Nieuw-Zeeland

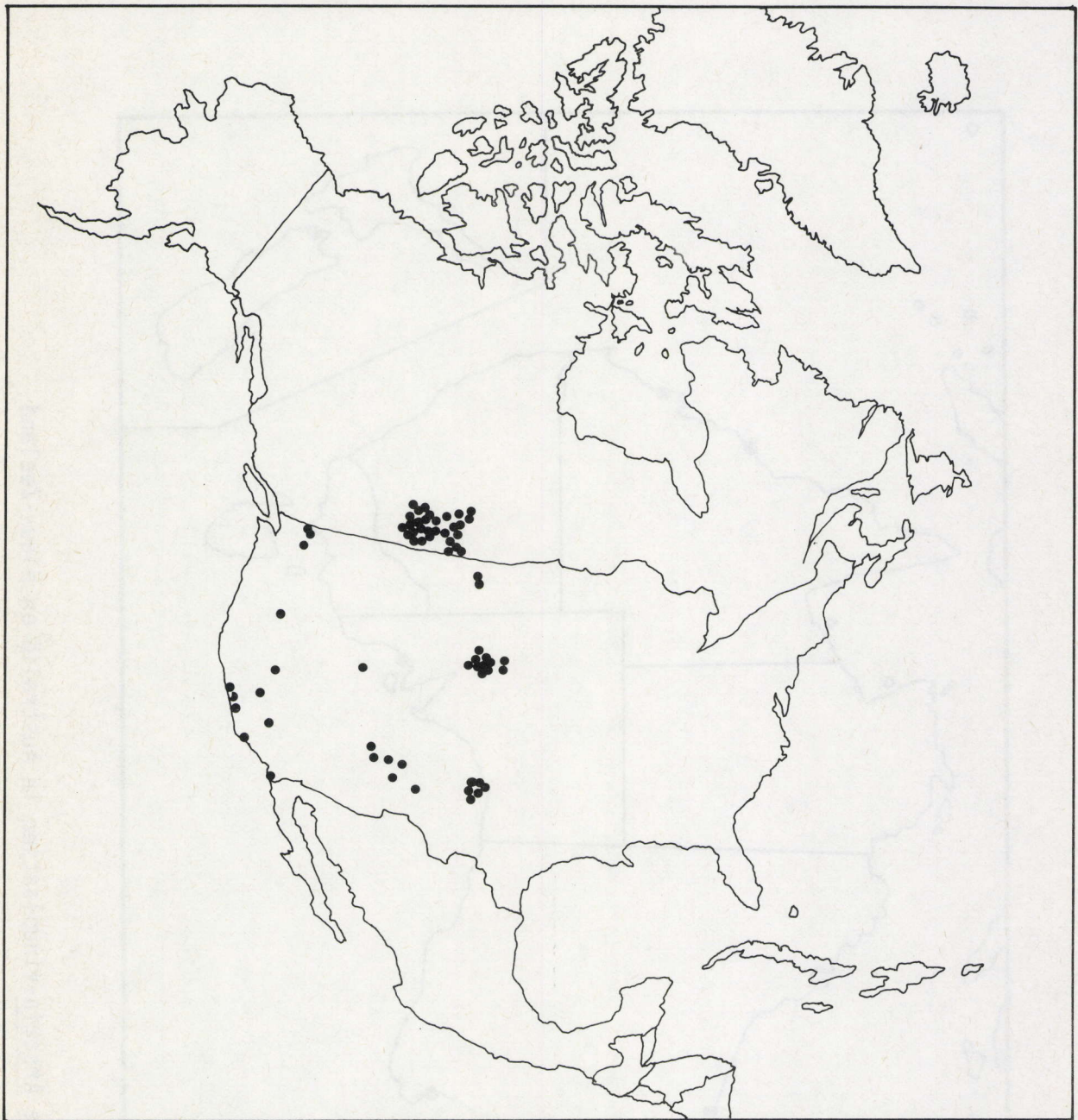


Fig.3. De Artemia-vindplaatsen in Noord-Amerika

Tabel V. De Artemia-vindplaatsen in Noord-Amerika

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
Canada	Akerlund Lake	52°18'N - 109°15'W	104
	Alsask Lake	51°20'N - 109°52'W	104
	Aroma Lake	52°18'N - 108°33'W	4, 104
	Berry Lake	52°07'N - 105°30'W	104
	Boat Lake	50°17'N - 109°59'W	104
	Burn Lake	49°49'N - 105°27'W	104
	Ceylon Lake	49°27'N - 104°36'W	104
	Chain Lake	50°30'N - 108°43'W	104
	Chaplin Lake	50°25'N - 106°38'W	4, 104
	Coral Lake	49°51'N - 102°21'W	104
	Drybore Lake	49°43'N - 105°30'W	104
	Enis Lake	52°10'N - 108°19'W	104
	Frederick Lake	49°59'N - 105°38'W	104
	Fusilier Lake	51°50'N - 109°44'W	104
	Grandora Lake	52°06'N - 107°00'W	104
	Gull Lake	50°06'N - 108°27'W	104
	Hatton Lake	50°02'N - 109°50'W	104
	Horizon Lake	49°32'N - 105°17'W	104
	Ingerbright Nath	50°22'N - 109°19'W	104
	Landis Lake	52°13'N - 108°27'W	104
	Little Manitou Lake	51°48'N - 105°30'W	4, 24, 44, 46, 90, 104
	Lydden Lake	52°09'N - 108°13'W	104
	Mawer Lake	50°46'N - 106°22'W	104
	Meacham Lake	52°07'N - 105°47'W	104
	Muskiki Lake	52°20'N - 105°45'W	104
	Neola Lake	52°02'N - 107°49'W	104
	Oban Lake	52°09'N - 108°09'W	104
	Richmond Lake	52°01'N - 108°01'W	104
	Shoe Lake	49°55'N - 105°27'W	104
	Snakehole Lake	50°30'N - 108°30'W	104
	Sybouts Lake-East	49°02'N - 104°24'W	104
	Sybouts Lake-West	49°02'N - 104°27'W	104
	Verlo West	50°19'N - 108°37'W	104
	Vincent Lake	50°13'N - 108°57'W	104
	Wheatstone Lake	49°49'N - 105°24'W	104
	Whiteshore Lake	52°08'N - 108°17'W	104
USA- Arizona	Kiatuthlana Red Pond	34°50'N - 109°26'W	11, 12, 13, 24, 44
	Kiatuthlana Green Pond	34°50'N - 109°26'W	11, 12, 13, 24, 44
-Californië	Carpinteria Slough	34°24'N - 119°30'W	43
	Mono Lake	38°00'N - 119°00'W	6, 12, 22, 24, 58, 66, 95
	Moss Landing, Monterey Bay	36°42'N - 121°49'W	44, 87
	Owens Lake	36°25'N - 117°56'W	24
	San Diego	32°50'N - 117°10'W	44
	San Francisco Bay	37°28'N - 122°30'W	21, 44, 76, 90
	San Pablo Bay	38°00'N - 122°16'W	77, 103
	Vallejo West Pond	38°12'N - 122°15'W	21, 44
-Hawaii	Christmas Islands	01°50'N - 157°20'W	97, 98
	Hanapepe	21°54'N - 159°30'W	23
	Laysan Atoll	25°30'N - 167°00'W	23
-Nebraska	Alkali Lake	43°32'N - 100°38'W	24
	Ashenburger Lake	42° N - 102° W	24
	Cook Lake	42° N - 102° W	12, 24, 49
	East Valley Lake	42° N - 102° W	24
	Grubny Lake	42° N - 102° W	24

Tabel V. Vervolg

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
	Homestead Lake	42° N - 102° W	24
	Jesse Lake	42°06'N - 102°39'W	11, 12, 49
	Johnson Lake	42° N - 102° W	12, 24
	Lilly Lake	42° N - 102° W	11, 12, 49
	Reno Lake	42° N - 102° W	24
	Richardson Lake	42° N - 102° W	12, 24, 49
	Ryan Lake	42° N - 102° W	12
	Sheridan County Lakes	42° N - 102° W	12
-Nevada	Fallon	39°31'N - 118°52'W	58, 95
-North Dakota	Miller Lake	- -	24
	Stink (Williams) Lake	- -	24
-New Mexico	Laguna del Perro	34°32'N - 106°01'W	106
	Loving Salt Lake	32°17'N - 104°04'W	109
	Quemado	34°17'N - 108°28'W	44
	Zuni Salt Lake	34°27'N - 108°46'W	5, 11, 12
-Oregon	Lake Abert	42°35'N - 120°15'W	105
-Texas	Cedar Playa	32°49'N - 102°07'W	75
	McKenzies Playa	32°41'N - 102°10'W	75
	Mound Playa	33°10'N - 101°56'W	75
	Playa Thahoka	33°12'N - 101°34'W	24, 75
	Rich Playa	33°13'N - 102°03'W	75
	Snow drop Playa	32°59'N - 101°40'W	75
-Utah	Great Salt Lake	41°00'N - 112°30'W	11, 12, 18, 19, 24, 30, 31, 32, 42, 90
-Washington	Hot Lake	48°58'N - 119°29'W	3, 7
	Omak Plateau	48°25'N - 119°24'W	7, 11
	Soap Lake	47°23'N - 119°25'W	44

Tabel VI. De Artemia-vindplaatsen in Midden - Amerika

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
Bahama's	Great Inagua	21°00'N - 75°20'W	44
	Long Island	23°20'N - 75°07'W	114
	San Salvador	24°00'N - 74°35'W	118
Britse Maagdeneilanden	Anegada	18°45'N - 64°24'W	140
Caribische eilanden	Antigua	17° 0'N - 61°45'W	124
	St. Kitts	17°20'N - 62°45'W	124
	St. Martin	18°04'N - 63°06'W	140
Costa Rica	Gulfo Nicoya	10°00'N - 84°49'W	126
Dominikaanse Republiek	Punta Salinas	18°20'N - 71°04'W	110
Mexico	Bahia de Cueta	24°05'N - 107°00'W	29
	Guerrero Negro	28°06'N - 114°03'W	29
	Chiapas	15°56'N - 93°30'W	29
	Las Salinas	22°40'N - 101°42'W	120
	Pichilingue Island	24°17'N - 110°20'W	29, 44
	Salina Cruz	16°10'N - 95°10'W	29
	San Jose Island	25°00'N - 110°50'W	131
	San Quintin	30°28'N - 115°58'W	44
	Yavaros	26°43'N - 109°33'W	29
Nederlandse Antillen	Aruba	12°30'N - 70°00'W	15
	Bonaire	12°04'N - 68°13'W	33
	Gotomeer	12°14'N - 68°23'W	15, 33
	Pekelmeer	12°04'N - 68°16'W	15, 33, 84
	Martinus	12°09'N - 68°17'W	14, 15
	Slagbaai	12°16'N - 68°25'W	14, 15
	Curaçao Fuik	12°03'N - 68°51'W	14, 15
	Rifwater	12°08'N - 68°57'W	14, 15
Puerto Rico	Bahia Salinas	17°57'N - 67°12'W	150
	Boqueron	18°01'N - 67°10'W	150
	Cabo Rojo	17°56'N - 67°08'W	85
	La Parguera	17°59'N - 67°03'W	52
	Ponce	18°00'N - 66°38'W	150
	Tallaboa	18°00'N - 66°42'W	44

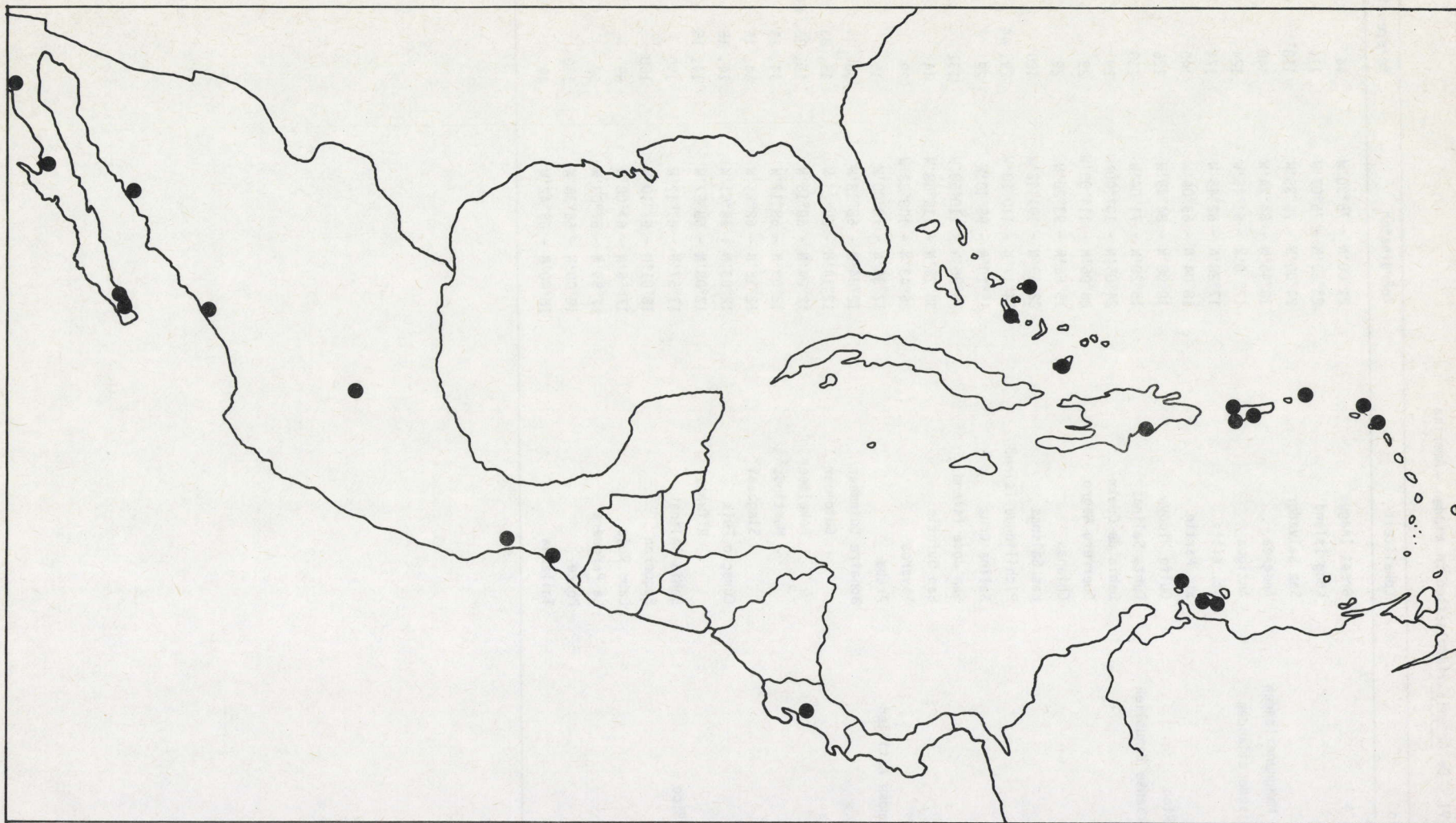


Fig.4. De Artemia-vindplaatsen in Midden-Amerika

Tabel VII. De Artemia-vindplaatsen in Zuid-Amerika

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
Argentinië	Bahia Blanca	38°43'Z - 62°15'W	100
	Buenos Aires	34°30'Z - 58°20'W	152
	Hidalgo	37°10'Z - 63°32'W	44, 65, 88, 89
	Mar Chiquita	30°39'Z - 62°30'W	152
Brazilië	Cabo Frio	22°51'Z - 42°03'W	16
	Macau	5°00'Z - 36°40'W	68
Chili	Pichelimu	34°22'Z - 72°09'W	70
Colombia	Galera Zamba	10°25'N - 74°40'W	108
	Manaure	12°09'N - 71°55'W	108
Ecuador	Galapagos eilanden	0° Z - 89° W	44
	Pacoa	2°00'Z - 80°50'W	136
	Salinas	2°20'Z - 80°58'W	136
Peru	Caucato	13°40'Z - 76°05'W	128
	Chicama	7°42'Z - 79°27'W	128
	Chilca	12°35'Z - 76°41'W	137, 128
	Estuario de Virrila	5°50'Z - 80°50'W	128
	Guadalupe	7°17'Z - 79°28'W	128
	Pampa de Salinas	11°14'Z - 77°35'W	128
	Pampa Playa Chica	11°14'Z - 77°35'W	128
	Puerto Huarmey	10°03'Z - 78°08'W	128
	Tumbes	3°37'Z - 80°27'W	128
	Boca Chica	10°57'N - 64°26'W	60, 146
Venezuela	Cayo Sal	10°56'N - 68°16'W	146
	Coche	10°41'N - 63°58'W	146
	Coro Coastline	11°30'N - 69°45'W	132
	La Orchila	11°49'N - 66°00'W	146
	Las Aves	12°00'N - 67°17'W	146
	Los Roques	11°50'N - 66°38'W	144, 146
	Port Araya	10°39'N - 64°17'W	145
	Tucacas	10°48'N - 68°19'W	146



Fig.5. De Artemia-vindplaatsen in Zuid-Amerika

Tabel VIII. De Artemia-vindplaatsen in Azië

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
China	Tientsin	39°10'N - 117°00'O	107, 125
	Tsingtao	36°00'N - 120°25'O	107, 127
India	Bhayander, Bombay	18°55'N - 72°50'O	34, 61, 62
	Didwana	27°17'N - 74°25'O	115
	Jamnagar	22°30'N - 70°08'O	28, 62
	Karsewar Island	8°50'N - 78°10'O	1
	Kutch	23°20'N - 71°00'O	28, 44, 117
	Mithapur	23°00'N - 70°10'O	28, 62, 119
	Pattanamuruthur	8°55'N - 78°08'O	59
	Spic Nagar	8°50'N - 78°08'O	59
	Thirispuram	8°50'N - 78°08'O	59
	Tuticorin	8°50'N - 78°08'O	26, 27, 57, 59, 62
	Vadala, Bombay	18°55'N - 72°50'O	26, 27
	Veppalodai	8°59'N - 78°08'O	59
	Vivar, Bombay	18°55'N - 72°50'O	116
Irak	Abu-Graib, Baghdad	33°20'N - 44°30'O	121
	Basra	30°25'N - 47°51'O	2
	Dayala	33°30'N - 44°30'O	2
	Mahmoodia	33° N - 44° O	2
Iran	Lake Rezaiyeh	37°20'N - 45°40'O	12, 24, 44, 45
	Schor-Gol	37°03'N - 45°32'O	12, 24, 45
Israël	Athlit	32°42'N - 34°56'O	96
	Eilat noord	29°32'N - 34°56'O	122
	Eilat zuid	29°28'N - 34°56'O	122
Japan	Chang Dao	34° N - 132° O	55
	Tamano	34°35'N - 133°59'O	51
	Yamaguchi	34°10'N - 131°32'O	44, 51
Koeweit		29° N - 47° O	129
Sri Lanka	Putallam	8°02'N - 79°50'O	133
Turkije	Izmir (Camalti)	38°25'N - 27°08'O	35
	Tuz Golii	38°45'N - 33°30'O	10

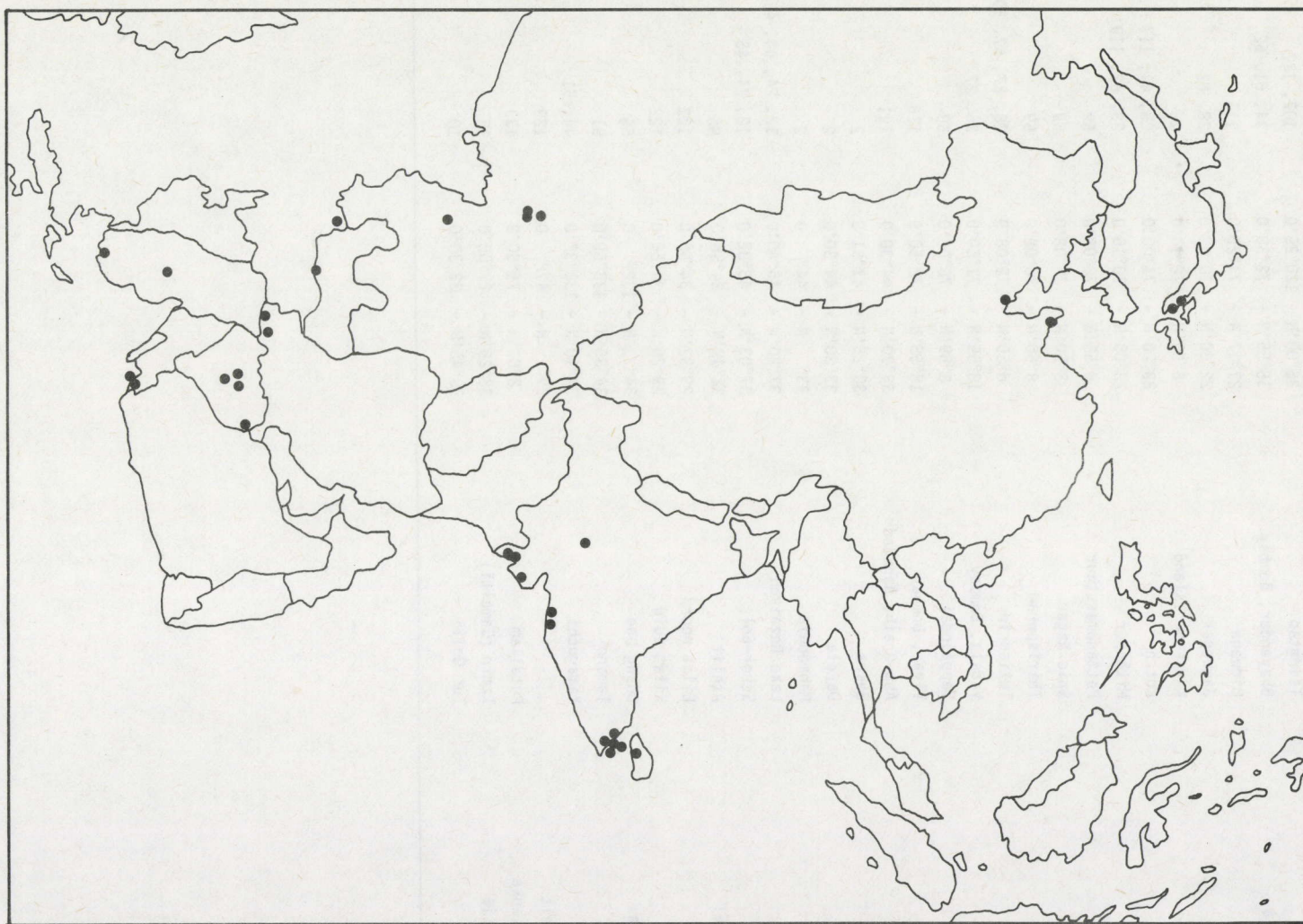


Fig.6. De Artemia-vindplaatsen in Azië

Tabel IX. De *Artemia*-vindplaatsen in Europa

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
Bulgarije	Burgas	42°33'N - 27°29'O	8, 47
	Pomarye	42°26'N - 27°41'O	8, 47
Cyprus	Akrotiri lake	34°34'N - 32°58'O	17
	Larnaca lake	34°56'N - 33°35'O	17
Frankrijk	Aigues Mortes	43°34'N - 4°11'O	112
	Carnac-Trinité sur Mer	47°36'N - 3°05'W	82
	Guérande-Le Croisic	47°20'N - 2°26'W	82
	La Palme	42°59'N - 3°00'O	134
	Lavalduc	43°24'N - 4°56'O	112
	Mesquer-Assérac	47°26'N - 2°29'W	82
	Porte La Nouvelle	42°57'N - 3°02'O	112
	Salin de Berre	43°24'N - 5°05'O	135
	Salin de Fos	43°26'N - 4°56'O	135
	Salin de Giraud	43°24'N - 4°44'O	134
	Salins d'Hyères	43°07'N - 6°12'O	135
	Salin des Pesquiers	43°07'N - 6°12'O	135
	Sète	43°25'N - 3°42'O	44, 78, 79
Griekenland	Mesologion	38°21'N - 21°26'O	141
Italië	Comacchio	44°41'N - 12°10'O	78, 79
	Margherita di Savoia	41°25'N - 16°05'O	147
	Sicilië - Siracuse	37°04'N - 15°18'O	123
	- Trapani	38°01'N - 12°30'O	148
Portugal	Alcochete	38°45'N - 8°57'W	63
	Tejo estuarium	38°50'N - 9°00'W	138
	Sado estuarium	38°25'N - 8°43'W	138
	Ria de Aveiro	40°37'N - 8°38'W	138
	Ria de Faro	37°02'N - 7°55'W	138
Roemenië	Lake Techirghiol	43°04'N - 28°34'O	9, 36, 39
Sardinië	Santa Gilla	39°14'N - 9°06'O	78, 79
Spanje	Armalla	40°54'N - 1°59'W	63
	Ayamonte	37°13'N - 7°24'W	63
	Cabo de Gata	36°48'N - 2°14'W	63
	Cadiz - San Felix	36°30'N - 6°20'W	41, 63, 67, 71
	San Fernando	36°22'N - 6°17'W	41, 63, 67, 71
	Calpe	38°39'N - 0°03'O	63
	Campos del Puerto, Mallorca	39°26'N - 3°01'O	63, 71
	Delta de Ebro	36°25'N - 6°18'W	63
	Gerri de la Sal	42°20'N - 1°04'O	63, 71
	Imon	41°10'N - 2°45'W	63
	Isla Cristina	37°13'N - 7°19'W	63
	Buyaraloz	41°29'N - 0°10'W	63, 71
	Laguna de Quero	39°34'N - 3°17'W	63
	Las Palmas	28°10'N - 15°28'W	96
	Lepe	37°15'N - 7°12'W	63
	Lerin	42°29'N - 10°59'W	63
	Medacineli	41°12'N - 2°30'W	63
	Molina del Segura	38°03'N - 1°11'W	63
	Peralta de la Sal	42°00'N - 0°24'O	63
	Poza de la Sal	42°40'N - 3°30'W	63, 71
	Rienda	41°06'N - 2°34'W	63
	Roquetas	40°50'N - 0°30'O	63
	Saelices	39°55'N - 2°49'W	63
	Salinera Catalana	37°37'N - 0°51'W	63
	Salinera Espanola, Formentera	38°40'N - 1°26'O	63
	Salinera Espanola, Ibiza	38°55'N - 1°35'O	63, 71
	Salinera Punta Galera	37°42'N - 0°54'W	63

Tabel IX. Vervolg

Land	Lokaleiteit	Koördinaten	Referenties
USSR	San Juan del Puerto	37°20'N - 6°50'W	63
	Sanlúcar de Barrameda	36°43'N - 6°23'W	63
	San Pedro del Pinatar	37°50'N - 0°50'W	63
	Santa Pola - Bonmati	38°13'N - 0°35'W	63
	Bras de Port	38°13'N - 0°35'W	63
	Salinera Espanola	38°13'N - 0°35'W	63
	Siguenza	41°04'N - 2°38'W	63
	Villena	38°39'N - 0°52'W	63
	Bolshoe Otar Mojnakhshoe	45° N - 33° 0	53
	Bolshoe Yarovoe	53°00'N - 78°30'0	143
	Burlinskoe	53°10'N - 78°20'0	24
	Dzharylgach	45°35'N - 32°56'0	53, 54
	Ghenicheskoe Lake	46°15'N - 35°00'0	74
	Karachi Lake	41°16'N - 72°00'0	92
	Kasakhstan	49°00'N - 50°00'0	69
	Kuchukskoe	52°40'N - 79°40'0	24
	Kujalnic estuarium	46°43'N - 30°40'0	9
	Kyzyl - Jar Lake (Primorsk)	40°14'N - 49°33'0	92
	Mangyshlak peninsula	43°40'N - 52°30'0	149
	Odessa	46°30'N - 30°45'0	44, 69
	Ontario Lake	- -	92, 93
	Petukhovskoe	52°10'N - 78°40'0	24
	Popovskoe Lake	45° N - 33° 0	54
	Sakskoe	45°10'N - 33°30'0	24, 53, 72
	Sasyk Lake	45°15'N - 33°25'0	50, 53, 72, 92
	Sasykol Lake	53°40'N - 61°40'0	64
	Tambukan	- -	24
	Tinaki Lake	- -	149
	Tobechickskoe Lake	45°10'N - 36°05'0	53, 142
	Turkomama	- -	151
	Yalovoye	- -	149

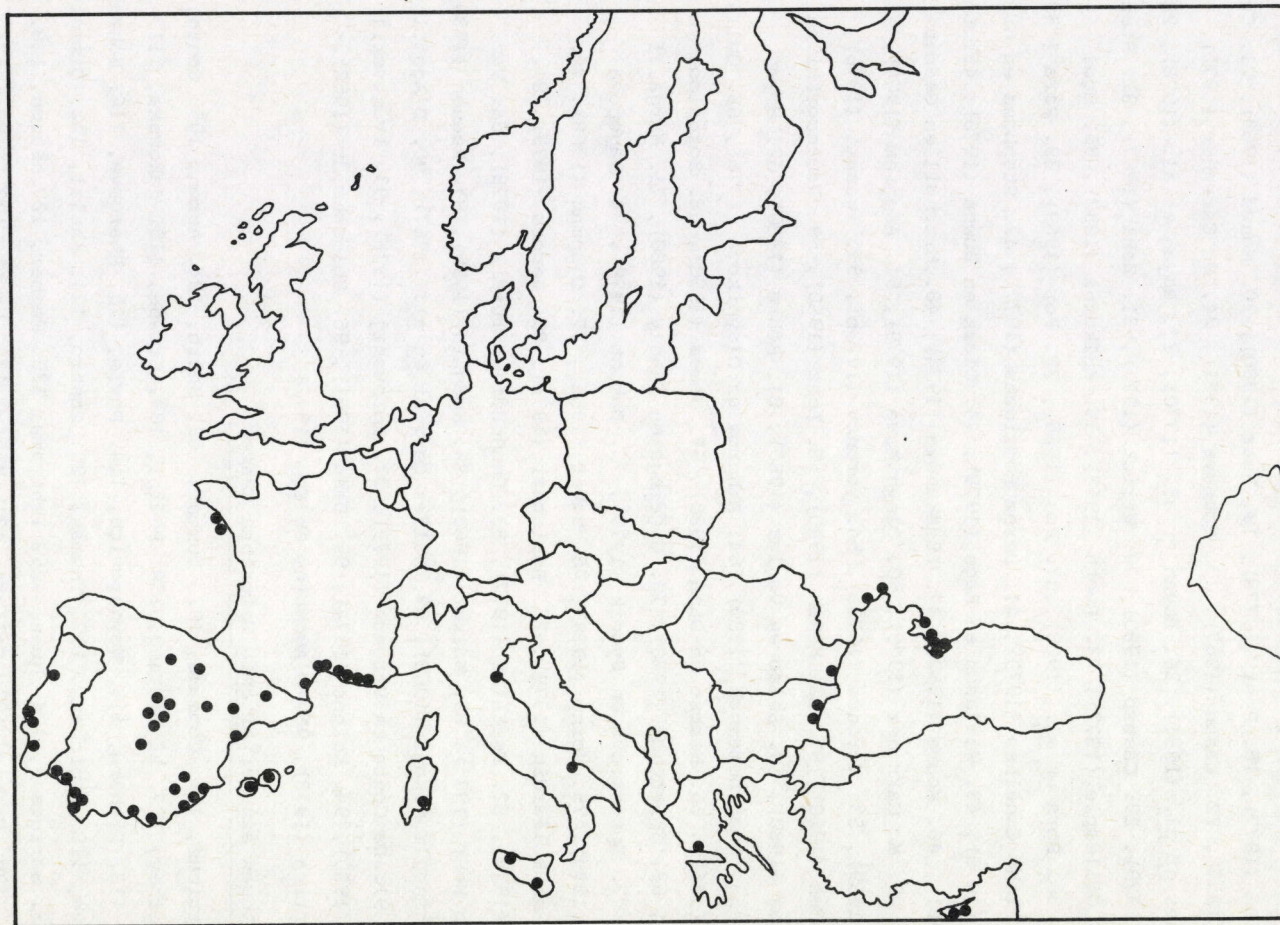


Fig.7. De Artemia-vindplaatsen in Europa

Referenties

1. Achari (1971), 2. AL-Uthman (1972), 3. Anderson (1958a), 4. Hammer et al. (1975), 5. Bradbury (1971), 6. Anoniem (1979), 7. Broch (1969), 8. Caspers (1952), 9. Caspers (1957), 10. Cottarelli en Mura (1974), 11. Collins (1977), 12. Cole en Brown (1967), 13. Cole en Whiteside (1965b), 14. Kristensen en Hulscher-Emeis (1972), 15. Hummelinck (1930), 16. Da Costa (1972), 17. Deme-tropoulos (1977), 18. Post (1977a), 19. Post (1980), 20. Monod (1969), 21. Car-pelan (1957), 22. Mason (1967), 23. Caspers (1981), 24. Mc Carraher (1972), 25. Jones et al. (1981), 26. Royan et al. (1970), 27. Royan et al. (1978), 28. Royan (1979), 29. Castro (1980), 30. Wirick (1972), 31. Zahl (1967), 32. Step-hens en Gillespie (1972), 33. Rooth (1965), 34. Kulkarni (1953), 35. Uçal (1979), 36. Pora et al. (1960), 37. Por (1968), 38. Por (1969), 39. Pora (1962), 40. de Pinho Canêlhas (1979), 41. Perez Rodriguez (1977), 42. Stephens en Gil-lespie (1976), 43. Willason en Page (1978), 44. Clark en Bowen (1976), 45. Löff-ler (1961), 46. Moore (1952), 47. Lüdskanova (1974), 48. Mitchell en Geddes (1977), 49. Mc Carraher (1970), 50. Oleynikova (1979), 51. Anoniem (1964), 52. Nixon (1969), 53. Voronov (1973a), 54. Voronov (1973b), 55. Iwasaki (1976), 56. Geddes (1980), 57. Lal Mohan (1980), 58. Lenz (1980), 59. Ramamoorthi en Thangaraj (1980), 60. Selzo en Voglar (1980), 61. Bohra (1980), 62. Royan (1980), 63. Amat Domenech (1980), 64. Akhorov en Oleynikova (1976), 65. Colla et al. (1961), 66. Herbst en Dana (1980), 67. James (1980), 68. Sorgeloos (1980b), 69. Spitchak (1980), 70. Giddings en Chanly (1980), 71. Margalef (1974), 72. Spectorova en Syomik (1979), 73. Dumont (1979), 74. Bagotova et al. (1979), 75. Horne (1974), 76. Baker (1966), 77. Chapman (1968), 78. Metalli en Ballardin (1972), 79. Barigozzi (1974), 80. Geddes (1979), 81. Beadle (1974), 82. Fontaine (1977), 83. Ghannudi en Tufail (1978), 84. Van der Meer Mohr (1977), 85. Walker (1962), 86. Hodgkin (1959), 87. Kuenen (1939), 88. Piccinelli et al. (1968), 89. Halfer Cervini et al. (1967), 90. D'Agostino (1965), 91. Da Costa en Vargara (1979), 92. Lozovskij (1978), 93. Ivanovskij et al. (1980), 94. Knight (1974), 95. Dana (1981), 96. Goldschmidt (1952), 97. Helfrich (1973), 98. D'Agostino en Yep (1977)

Mededelingen aan het Artemia Reference Center

100. Martinez, 101. Coomans, 102. Dumont, 103. Smith, 104. Atton, 105. Conte, 106. Gaffney, 107. Li Maotang, 108. Pedini, 109. Browne, 110. Jakowska, 111. Morgan, 112. Richard, 113. Woynarovich, 114. Davis, 115. Bhargava, 116. Bohra, 117. Dave, 118. Robichaux, 119. Thomas, 120. Castro, 121. Khalaf, 122. Diment-man, 123. Barigozzi, 124. Nunn, 125. Ishiyama, 126. Webber, 127. Satoh, 128. Carrera, 129. Farmer, 130. Collart, 131. Ehnis, 132. Urosa, 133. Ferdinando, 134. Mc Donald, 135. Lavens, 136. Haxby, 137. Nava, 138. Figueiredo, 139. Em-merson, 140. Walkers, 141. Konstantinidis, 142. Ivleva, 143. Spectorova, 144. Perez, 145. Teruel, 146. Brownell, 147. Trotta, 148. Morales, 149. Spectorova, 150. Waldner, 151. Spitchak, 152. Rakowicz.

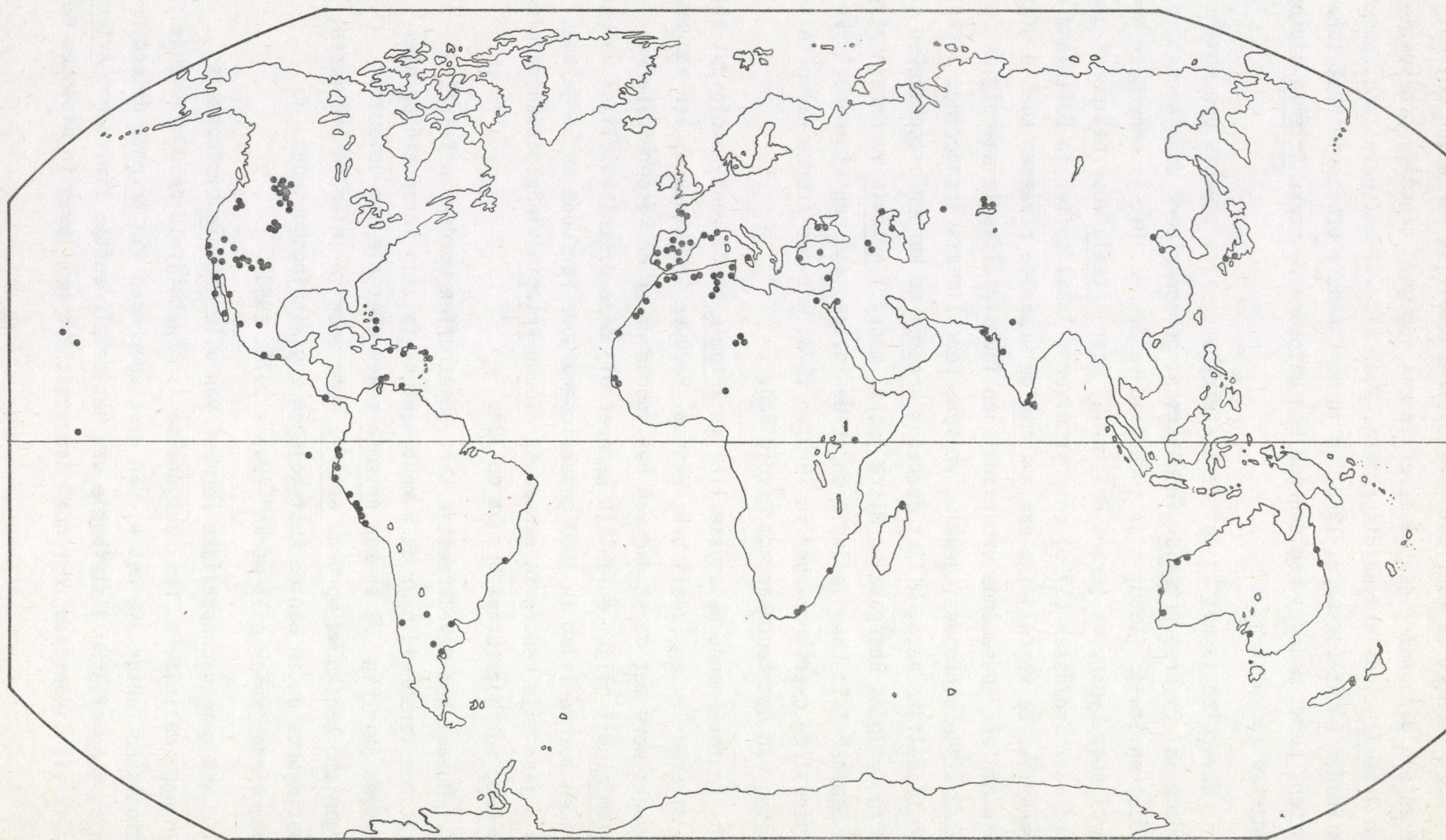


Fig.8. De distributie van Artemia op wereldschaal

Het spreekt vanzelf dat deze distributielijst verre van volledig is. Op enkele uitzonderingen na is er immers nog geen grondige prospectie van Artemia-vindplaatsen uitgevoerd. Waar dit wel het geval was, namelijk in Spanje (Amat-Domenech, 1980) en in de Canadese provincie Saskatchewan (Atton, pers. meded.) kon dan ook een uitgebreide reeks Artemia-biotopen aangetroffen worden.

Bovendien is het zo dat deze distributielijst slechts een momentopname is. Diverse Artemia-vindplaatsen, gerapporteerd door Abonyi (1915) en Stella (1933) zijn inderdaad verdwenen. Dit is ondermeer het geval voor Lymington (Groot-Brittannië) waar Artemia voor het eerst ontdekt werd door Schlösser (1756) en voor diverse lokaliteiten in Duitsland en Frankrijk. De verdwijning van Artemia op bepaalde plaatsen kan te wijten zijn aan een toenemende urbanisatie en industrialisatie waarbij de natuurlijke biotopen ingepalmd worden. Een klimaatsverandering, zelfs van tijdelijke aard, blijkt eveneens Artemia te kunnen uitschakelen ; zo zou volgens Bhargava en Misra (pers. meded.) Artemia verdwenen zijn in Sambhar Salt Lake in Indië onder de invloed van een uitzonderlijke regenval en overstromingen in 1975 en 1976, wat een sterke saliniteitsdaling van het zoutmeer tot gevolg had.

De toenemende belangstelling in Artemia heeft voor gevolg dat thans in diverse landen (zoals bvb. Mexico, Peru en Griekenland) een aanvang gemaakt werd met de studie van het voorkomen en de verspreiding van Artemia. Dit blijkt duidelijk wanneer wij onze distributielijst vergelijken met de lijst in 1980 gepubliceerd door Persoone en Sorgeloos. In 2 jaar tijd konden inderdaad 65 nieuwe Artemia vindplaatsen genoteerd worden, wat het totaal brengt op 308.

Hoewel het pekelkreeftje kan aangetroffen worden in talrijke biotopen verspreid over de 5 continenten, is zijn verspreiding niet continu (zie Fig. 8) en kan Artemia zeker niet als een ubiquist organisme beschouwd worden. Artemia komt voor in inlandse zoutmeren, kustlagunes en in aan de kust gelegen zoutwinningsgebieden, de zogenoemde "solar salt works" (Davis 1978, 1980).

Het gemeenschappelijke kenmerk van alle Artemia-biotopen is hun hoge saliniteit. Het zoutgehalte is ongetwijfeld de dominerende abiotische faktor die het al dan niet voorkomen van Artemia determineert en de geografische distributie van het pekelkreeftje limiteert. Artemia heeft zich inderdaad zeer goed aangepast aan het leven in biotopen met

een extreem hoge saliniteit. Enerzijds bezit het een zeer doeltreffend osmoregulatiesysteem (Croghan 1958a; Bayly, 1972 ; Schmidt - Nielsen, 1974) ; anderzijds beschikt het pekelkreeftje over een zeer efficiënt respiratorisch systeem (Gilchrist 1954 ; Geddes, 1981). Dank zij een ademhalingspigment gebonden op het Hb III-haemoglobine (Moens en Kondo, 1976) blijft de O_2 - opname van Artemia konstant tot bij zeer lage O_2 - concentraties (minimum 0.9 mg/l) (Geddes 1981). Deze uitzonderlijke fysiologische adaptaties laten Artemia toe te leven in extreme en zoutrijke biotopen en vormen een zeer efficiënt ekologisch verdedigingsmiddel. In biotopen met een laag zoutgehalte heeft Artemia immers geen enkel verweer tegen predatoren.

De ondergrens van de saliniteit waarbij het pekelkreeftje in de natuur voorkomt wordt bepaald door de tolerantiegraad voor zouten van de plaatselijk voorkomende predatoren. Kristensen en Hulscher-Emeis (1972) stellen dan ook terecht vast dat "in waters containing fish, no Artemia will be found".

De maximale saliniteit die vissen, naast vogels de voornaamste natuurlijke predatoren van Artemia, kunnen verdragen varieert van soort tot soort. De hoogste waarden die genoteerd werden zijn 130 ‰ voor Cyprinodon dearborni en Poecilia sphenops (Kristensen en Hulscher - Emeis, 1972). In zijn overzichtsartikel omtrent de saliniteitstolerantie van aquatische organismen noteerde Bayly (1972) meer dan 20 vissoorten die salinititeiten hoger dan 60 ‰ verdragen, waaronder als bijzonderste Tilapia sp., Mugil sp. en Fundulus sp.. Mugil auratus, Albuba vulpes, Atherinopes affinis en Cyprinodon variegatus werden aangetroffen bij salinititeiten begrepen tussen 70 en 100 ‰. (Caspers, 1957 ; Davis, 1978). In de hypersaline wateren van Shark Bay komen een 6-tal vissoorten voor bij salinititeiten van 51 tot 84 ‰. (Lenantoni, 1977).

Naast vissen kunnen ook insecten zich actief voeden met Artemia. Hierbij dienen vooral de Odonata-larven en aquatische Coleoptera en Hemiptera vermeld te worden, die aan hoge salinititeiten kunnen weerstaan. Sommige Coleoptera kunnen in leven blijven bij salinititeiten tot 120 ‰, en sommige Odonata bij salinititeiten tot 60 ‰. (Rawson en Moore, 1944 ; Bayly, 1972).

Voor al de familie der Corixidae (Hemiptera) zijn geduchte Artemia-rovers en komen voor in zoutmeren (Rawson en Moore, 1944 ; Baker, 1966 ; Caspers, 1981 ; Williams, 1981 ; Bradbury , 1971). Stephens (1974) stelde in het Great Salt Lake een predator-prooi relatie vast tussen Corixa sp. en Artemia.

De stelling dat de afwezigheid van Artemia in minder zoutrijke milieus te wijten is aan predatie is algemeen aanvaard in de literatuur. Williams (1981b) stelt echter een alternatieve hypothese voor, namelijk dat halobionten zoals Artemia door hun adaptatie aan de onstabiliteit van de saliniteit van hun milieu, inadaptief geworden zijn aan een stabiel milieu. Volgens deze auteur zou dit dan ook de reden zijn waarom Artemia niet in zee voorkomt, hoewel het pekelkreeftje best bij een saliniteit van 35 ‰ kan leven en reproduceren. Deze hypothese lijkt ons echter niet gegrond daar reeds voldoende bewezen is dat Artemia in staat is in een stabiel milieu te leven. Zo heeft Grosch (1962, 1973) reeds diverse jaren een Artemia-populatie onderhouden onder gestandaardiseerde condities.

De rechtstreekse invloed van de saliniteit op de geografische verspreiding van Artemia blijkt duidelijk uit de gegevens van Hammer (1978) die de saliniteit bepaald heeft van een 60-tal zoutmeren in Saskatchewan. De saliniteit van de bestudeerde meren varieert van 2,4 tot 370,2‰. Artemia wordt enkel aangetroffen in een 5-tal meren (Muskiki, Chaplin Lake, Whiteshore, Little Manitou en Aroma) waar de saliniteit minstens 94 ‰ bedraagt. In geen enkel van de andere meren met lagere saliniteit kon Artemia gevonden worden. Een analoog distributie-patroon louter in functie van de saliniteit werd gerapporteerd door Mc Carraher (1970) voor de zoutmeren van Nebraska. Niet alleen geografisch gezien doch ook binnen een bepaald zoutwinningsgebied blijft de aanwezigheid van Artemia beperkt tot de zoutpannen met een voldoende hoog zoutgehalte (Carpelan, 1957). "Artemia's lower salinity occurrence coincides with salt concentrations just excluding fish" (Davis 1980).

Het zoutgehalte is tevens de enige parameter die duidelijk het verspreidingspatroon van Artemia bepaald. De rol van de andere abiotische en biotische kenmerken der zoutmeren (zoals temperatuur, primaire produktie, licht enz...) is hierbij zeer beperkt. Deze parameters kunnen echter wel een invloed uitoefenen op de kwantitatieve ontwikkeling van Artemia in een bepaald biotoop of een temporele afwezigheid van Artemia veroorzaken (Al-Uthman, 1971; Baid, 1965 - voor meer details hieromtrent verwijzen wij naar Hoofdstuk 4.2).

Naast de hogervernoemde adaptaties beschikt Artemia over een ander fysiologisch mechanisme om extreme milieuomstandigheden te overleven.

Het pekelkreeftje beschikt immers over de mogelijkheid zijn overleving te verzekeren door de produktie van cysten of "Dauereier". Deze cysten kunnen weerstaan aan extreme temperatuurkondities, (Hinton, 1954 ; Skoultchi en Morowitz, 1964) ; daarenboven kunnen ze jarenlang hun leefbaarheid behouden. Wanneer de externe kondities terug gunstig worden en de saliniteit beneden een bepaalde drempelwaarde daalt (zie Hoofdstuk 8.4) gaan de cysten na een relatief korte tijd tot ontluiking komen en vrijzwemmende nauplii produceren.

Het exakte mechanisme dat de transitie van ovovivipariteit naar ovipariteit induceert is nog niet e nduidig verklaard. Een recente studie van Versichele en Sorgeloos (1980) heeft uitgewezen dat een cyclische zuurstofstress ovipariteit tot gevolg heeft. Dit blijkt echter niet de enige faktor te zijn voor alle Artemia-populaties. In het Great Salt Lake treedt cystenproduktie op na een daling van de watertemperatuur. (Stephens en Gillespie, 1976). In het Mono Lake zou de beschikbaarheid van voedsel een rol spelen (Lenz, 1980) en in Adelaide is de Artemia-populatie praktisch steeds ovovivipaar (Mitchell en Geddes, 1977).

Ondanks de vrij nauwe relatie tussen de saliniteit der biotopen en het voorkomen van Artemia, kan het pekelkreeftje niet in alle zoutmeren aangetroffen worden. In de lijst met inlandse zoutmeren opgesteld door Mc. Carraher (1972), konden wij meer dan 30 zoutmeren met een saliniteit van meer dan 100 ‰ noteren die geen Artemia bevatten. In West-Victoria (Australië) alleen zijn er 15 natuurlijke zoutmeren met een saliniteit die 100 ‰ overschrijdt waar Artemia niet voorkomt. (Williams, 1981b). De meest voor de hand liggende reden hiervoor is dat geen enkele van de klassieke distributievektoren (zie Hoofdstuk 2.2) Artemia toeliet deze biotopen te bevolken. De geografische isolatie van Australië versterkt nog dit argument. Voor het specifieke geval van Australië is het echter niet onmogelijk dat het endemisch genus Parartemia, dat een zeer hoge tolerantie bezit tegenover extreme kondities en hoge saliniteiten, en zeer verspreid is in Australische zoutmeren (Geddes, 1975 ; 1976 ; 1980 ; 1981) door een betere adaptatie aan de specifieke kondities die heersen in de Australische zoutmeren de ontwikkelingskansen van een ge ntrodeerde Artemia-populatie minimaliseren . De cysten van Parartemia komen inderdaad tot ontluiking bij een hogere saliniteit dan voor de Artemia-cysten het geval is (Geddes, 1981). Dit laat Parartemia dan ook toe de zoutmeren die veelal een seizoenaal karakter en een lage primaire produktie hebben in een vroeger stadium te bevolken dan Artemia.

Meldenswaardig in dit verband is dat in een zoutwinningsgebied bij Adelaide waar Artemia geïntroduceerd is, het enkel voorkomt bij de hoogste saliniteiten. De zoutpannen met een saliniteit lager dan 200 ‰ bevatten enkel Parartemia (Mitchell en Geddes, 1977). Bovenstaande vaststellingen laten ons dan ook toe te konkluderen dat Artemia in feite geen echt kosmopolitisch organisme is dat overal voorkomt, waar ook ter wereld haar niche in een habitat gerealiseerd is.

2.2. De verspreidingsvectoren van Artemia

De geografische verspreiding van Artemia kan langs natuurlijke weg of via de mens plaatsvinden. Gezien de geografische isolatie is de verspreiding via het waterig milieu, zijnde de belangrijkste vorm van dispersie voor de meeste aquatische organismen, hier praktisch uitgesloten. Aktieve dispersie komt dus niet voor bij Artemia.

Het feit dat Artemia over een ruststadium beschikt onder de vorm van cysten heeft echter tot gevolg dat Artemia meestal onderhevig is aan passieve dispersie. Op een paar uitzonderingen na (Mono Lake, Mason, 1967 ; Lenz, 1980 , en het zuidelijk deel van Great Salt Lake, Stephens en Gillespie, 1972) drijven de cysten op het wateroppervlak en spoelen ze aan op de oevers waar ze uitdrogen. De Artemia-cysten worden dan zo licht dat ze door de wind gemakkelijk kunnen weggeblazen worden. Deze cysten zijn dan uiteraard de speelbal van de wind en kunnen op die manier kilometers ver vervoerd worden. Deze vorm van dispersie is echter wellicht beperkt tot relatief korte afstanden.

Vogels die regelmatig de zoutmeren aandoen kunnen voor een meer uitgebreide dispersie instaan. In dit geval kan de verspreiding zich voordoen via cysten die aan de poten en veren blijven kleven doch ook via het opgenomen voedsel. Diverse auteurs (Carpelan, 1957 ; Rooth, 1965 ; Van der Meer Mohr, 1977 ; Mc Donald, 1980) rapporteerden immers dat vogels zich voeden met levende Artemia, waaronder adulten met cysten in de uterus. Mc Donald (1980) stelde zelfs vast dat ook aangespoeld cystenmateriaal regelmatig opgenomen wordt. Voedingsproeven met diverse vogelsoorten, o.a. flamingo's en eendesoorten, hebben uitgezeten dat een groot gedeelte der opgenomen Artemia-cysten hun leefbaarheid behouden na doorgang door het spijsverteringskanaal der vogels (Proctor, 1964 ; Proctor en Malone, 1965 ; Moore en Faust, 1972 ; Mc Donald, 1980). Het overlevingspercentage van deze cysten varieert

vanzelfsprekend van de ene vogelsoort tot de andere onder invloed van de fysiologische kondities en verteringsenzymes in het spijsverteringsstelsel en van de kropwerking.

De retentietijd van Artemia-cysten in het spijsverteringskanaal is zeer lang : Proctor et al (1967) konden leefbare cysten verzamelen in de faeces 24 uur na de opname ; Mc Donald (1980) tot 38 uur na de opname. Löffler (1964) meldt zelfs een retentietijd van maximaal 3 dagen. Uitgaande van de vaststelling dat migrerende vogels veelal snelheden halen van 50-100 km per uur (Dorst, 1962) spreekt het vanzelf dat vogels een belangrijke rol spelen bij de dispersie van Artemia over relatief grote afstanden.

Diverse vogelsoorten doen zoutmeren aan op zoek naar voedselrijke rustplaatsen. De meest frekwent aangetroffen vogelsoort is ongetwijfeld de flamingo. Dit is in feite een gevolg van de ecologische behoeften van deze soort, die bij voorkeur leeft in de nabijheid van ondiepe brakke of zoutrijke wateren, rijk aan kleine aquatische organismen. (Snow, 1978). Net zoals Artemia hebben ze een diskontinue distributie in kustlagunes en inlandse zoutrijke meren. Een parallel voorkomen van Artemia en flamingo's is bekend voor de zoutpannen van Zuid-Frankrijk (Mc Donald, 1980), de Nederlandse Antillen (Rooth, 1965, 1976) de golf van Kutch en Zuid Indië (Royan et al. 1970 ; Achari, 1971) en Lake Elmenteita (Brown, 1958). Naast de flamingo worden regelmatig ook pelikanen, futen, steltlopers, reigerachtigen en diverse eenden en meeuwensoorten opgemerkt bij Artemia-biotopen (Caspers, 1952 ; Baker, 1966 ; Zahl, 1967 ; Stephens en Gillespie, 1972 ; Anoniem, 1979 ; Mc Donald, 1980).

De rol van vogels bij de distributie van Artemia werd reeds door diverse auteurs naar voor gebracht. Willason en Page (1978) schrijven de aanwezigheid van Artemia in Carpinteria Slough (CA-USA) toe aan een introductie door vogels; Achari (1971) oppert de mogelijkheid dat Artemia van de golf van Kutch door migrerende flamingo's verspreid werden in de zoutpannen in de omgeving van Tuticorin. Daar de migratieroute van deze flamingo's doorloopt tot in Sri Lanka menen we dat ook aanwezigheid van Artemia in Puttalam (Sri Lanka) wellicht te wijten is aan een inbreng van cysten door de flamingo. Royan et al., (1970) schrijven de verspreiding van Artemia in Indië eveneens toe aan de flamingo. Clark en Bowen (1976) suggereren dat de distributie van de

16 Artemia franciscana-populaties (zie Hoofdstuk 5) te wijten is aan dissimiatie door vogels. Het is inderdaad zo dat de Artemia franciscana-biotopen in de Verenigde Staten en Mexico langs de Pacifische vluchtroute liggen (Dorst, 1962). Bovendien zijn zowel Great Salt Lake als Mono Lake broedgebieden voor duizenden vogels (Anoniem, 1979). Tenslotte merken we op dat het distributiepatroon van de flamingo in de West-Indische eilanden (Rooth, 1965) de veronderstelling staft dat de wijde Artemia-verspreiding in de Bahama's, de Dominikaanse Republiek en de Nederlandse Antillen aan deze vogelsoort te danken is. Daar deze vogels na de broedtijd uitzwerven over de kusten van Venezuela en Colombia is het niet onwaarschijnlijk dat de diverse Artemia-populaties in de kustgebieden van deze landen afkomstig zijn van de West-Indische eilanden of vice versa. Deze veronderstelling wordt gesteund door de geringe genetische differentiatie die de onderzochte populaties van Bonaire, Venezuela en Colombia vertonen (zie Hoofdstuk 5).

De verspreiding van cysten door toedoen van vogels kan het distributiepatroon van Artemia zeker niet volledig verklaren. Naast deze natuurlijke distributievektor heeft immers ook de mens in ruime mate bijgedragen tot de geografische verspreiding van Artemia. In sommige gevallen kan deze dispersie onbewust hebben plaatsgevonden zoals bijvoorbeeld bij het enten van een zoutwinningsgebied met zout dat Artemia-cysten bevat. Dit was het geval in Seto Nakai (Japan, Takano, pers. meded.). In vele gevallen is de dispersie echter bewust gebeurd. De positieve invloed van Artemia, als "clearer" van het pekelwater is inderdaad reeds lange tijd gekend (Baas Becking, 1931). Rackett (1812; in Kuenen en Baas Becking, 1938) rapporteerde dan ook dat de werklieden in zoutwinningsgebieden "are accustomed to transport a few of the worms from another saltern, if they do not appear in their own".

Vermits thans reeds uit diverse publicaties gebleken is dat de aanwezigheid van Artemia de zoutproductie zowel kwalitatief als kwantitatief kan verbeteren, (zie overzicht Sorgeloos, 1979b) mag logischerwijze verwacht worden dat diverse zoutwinningsgebieden geënt zijn met Artemia-cysten. De aanwijzingen hieromtrent zijn echter vrij beperkt. Geddes (1979, 1980) rapporteert dat alle Artemia-vindplaatsen in Australië gelokaliseerd zijn in operationele zoutwinningsgebieden langs de kusten en suggereert dan ook introductie door de mens (zoutproducenten). Voor wat de zoutpannen van Port Alma nabij Rockhampton betreft wordt dit bevestigd door Clark en Bowen (1976) en Jones et al. (1981) die inderdaad meldt dat "a brine shrimp population was established". De vaststelling dat de populatie van Rockhampton genetisch identisch is aan de populaties

van San Francisco Bay en Great Salt Lake (Bowen et al., 1978), tot voor enkele jaren de enige kommercieel geëxploiteerde Artemia-rassen, wijzen dan ook op een inokulatie van materiaal van één van deze rassen in Rockhampton. De rassen van Oost-Australië, namelijk Port Hedland en Rottnest Island zijn genetisch sterk gelijkend aan de populaties van India wat op een inokulatie van Indische Artemia aldaar zou kunnen wijzen. Voor wat Australië betreft kan trouwens opgemerkt worden dat een natuurlijke invoering van Artemia weinig waarschijnlijk is vermits Australië geografisch geïsoleerd is. Bovendien komt in de landen die het minst ver van Australië verwijderd zijn geen Artemia voor. In verband met de rol van de mens in de verspreiding van Artemia kunnen we nog aanstippen dat de menselijke interventie voornamelijk beperkt is tot de Artemia-vindplaatsen nabij de kusten, vermits op enkele uitzonderingen na, enkel in deze biotopen aan zoutwinning gedaan wordt.

Gezien de stijgende vraag naar Artemia en de hoge waarde van het cysten-materiaal is men de laatste jaren overgegaan tot de introductie van Artemia in zoutrijke biotopen. Hierbij werd Artemia niet meer als middel doch als een doel op zichzelf gesteld, namelijk de produktie van cysten en biomassa. Dergelijke inokulaties hebben inmiddels aanleiding gegeven tot permanente Artemia-populaties in de zoutmeren van Macau (Sorgeloos, 1980a) en de hypersaliene meren op Christmas Island (Helfrich, 1973). Ook in de Philippijnen (Barotac Nuevo) worden gedurende bepaalde perioden van het jaar cysten geproduceerd in plaatselijke "salinas" (De Los Santos et al., 1980). Voor meer informatie omtrent de kondities voor en de perspectieven van Artemia-inokulaties en -transplantaties verwijzen we naar hoofdstuk 3.

2.3. De invloed van het klimaat op de geografische verspreiding van Artemia

De distributie van Artemia is beperkt tot biotopen die steeds een voldoende hoge saliniteit bezitten zodat er geen predatoren kunnen overleven. Vermits het zoutgehalte afhankelijk is van de verhouding tussen de evaporatie en de watertoevoer (neerslag + insijpeling van grondwater + aanvoer van oppervlaktewater) is het duidelijk dat het klimaat een belangrijke impact zal hebben op de geografische verspreiding der Artemia-biotopen. Ten einde de klimaatsinvloed kwantitatief te kunnen vastleggen, hebben wij de distributie van de zoutmeren in functie van de diverse klimaattypes nagegaan.

De meest frequent toegepaste en tevens de eenvoudigste klimaatsindeling is deze uitgewerkt door Köppen (1930 - 1939). De gebruikte gegevens zijn de

gemiddelde maandelijkse temperatuur en neerslag. Uitgaande van deze minimale informatie die gemakkelijk te bekomen is voor nagenoeg alle plaatsen op aarde, stelde Köppen een gefundeerde indeling voor in 11 hoofdklimaattypen :

A-klimaten of tropische regenklimaten

Af : tropisch regenwoudklimaat

Aw : savanneklimaat

B-klimaten of droge klimaten :

BS : steppenklimaat

BW : woestijnklimaat

C-klimaten of warme gematigde regenklimaten :

Cw : warm gematigd klimaat met droge winter

Cs : warm gematigd klimaat met droge zomer

Cf : vochtig gematigd klimaat

D-klimaten of boreale klimaten :

DW : boreaal klimaat met droge winter

DF : boreaal klimaat met vochtige en koude winter

E-klimaten

ET : toendrakklimaat

EF : klimaat met eeuwige vorst

Aan de hand van de klimatologische kaart van Köppen - Geiger (in Blüthgen, 1964) werd voor alle gekende Artemia-vindplaatsen het klimaatype bepaald. De verdeling van de Artemia-biotopen over de hoofdklimaattypen is samengevat in Tabel X.

Uit Tabel X blijkt duidelijk dat veruit de meeste Artemia-biotopen gerangschikt worden onder het B-klimaat, gekenmerkt door droogte. Behalve voor Europa waar de meeste Artemia-vindplaatsen een C-klimaat kennen, gaat dit op voor alle werelddelen. Zowel in het A-klimaat als het C-klimaat komt Artemia vooral voor in die gebieden waar de neerslag minimaal is (Aw en Cs). Deze vaststellingen laten ons toe te konkluderen dat voornamelijk de neerslag determinerend is voor het voorkomen van Artemia. Nochtans kunnen enkele Artemia-vindplaatsen aangetroffen worden in de meer vochtige gebieden (Af, Cf en Df). Al deze lokaliteiten bevinden zich echter dichtbij de begrenzing met een droger klimaat. Zo zijn de Af-vindplaatsen in Amerika (Hawaii, de Caraibische eilanden gelegen op eilanden die omgeven zijn door een BS-klimaat. De 11 Noord-Amerikaanse vindplaatsen van het Df-type liggen op het grensgebied van het BS-klimaat in Saskatchewan. Het voorkomen van het BS-klimaat verklaart dan wellicht ook waarom in het zuiden van

Tabel X. Kwantitatieve verdeling van Artemia-biotopen over de hoofdklimaat-typen van Köppen

Type	Afrika	Amerika	Australië	Azië	Europa	Wereld
Af	-	6	-	-	-	6
Aw	1	20	1	4	-	26
BW	15	26	2	9	4	56
BS	5	66	2	10	30	113
Cs	10	10	2	2	43	67
Cw	1	-	1	1	-	3
Cf	2	4	1	2	12	21
Dw	-	-	-	3	-	3
Df	-	11	-	-	-	11
ET	-	-	-	-	-	-
EF	-	-	-	-	-	-

Saskatchewan Artemia zo verspreid voorkomt, terwijl in andere streken van Canada en de Verenigde Staten met dezelfde breedteligging geen Artemia-vindplaatsen gerapporteerd zijn.

De temperatuur blijkt binnen bepaalde grenzen geen grote invloed uit te oefenen op de verspreiding van de Artemia-biotopen. Onder de gematigde C-klimaten komen immers 30 % der Artemia-biotopen voor, terwijl onder de tropische klimaten slechts 10 % der Artemia biotopen gesitueerd zijn. Deze cijfers zijn echter gedeeltelijk misleidend daar de distributie van Artemia niet in alle streken even intens bestudeerd is. Zo is een aanzienlijk gedeelte van de Artemia vindplaatsen die deel uitmaken van het C-klimaat gelegen in Spanje, waar de verspreiding van Artemia grondig bestudeerd is (Amat-Domenech, 1980). Naarmate de gemiddelde temperaturen dalen vermindert snel het aantal Artemia-vindplaatsen. In de D-gebieden (gemiddelde temperatuur van de koudste maand kleiner dan -3°C) komen minder dan 5 % der Artemia-vindplaatsen voor. In de E-gebieden (gemiddelde temperatuur van de warmste maand begrepen tussen 0°C en 10°C - ET - of nooit hoger dan 0°C - EF) komt Artemia blijkbaar niet voor.

Uit het geheel van deze vaststellingen blijkt reeds duidelijk dat er een relatie bestaat tussen de klimaattypen van Köppen en het voorkomen van Artemia. Dit verband is echter onvoldoende eenduidig. Dit is enerzijds te wijten aan het feit dat in het kaartenmateriaal geen rekening gehouden wordt met streekgebonden klimaatkondities. Anderzijds is het zo, dat enkel gebruik gemaakt wordt van de numerieke waarden van temperatuur en neerslag, een werkwijze die weinig doeltreffend is voor het invoeren van de verdamping als klimatologisch element (Carter en Mather, 1966). Vermits het voorkomen van Artemia in ruime mate afhankelijk is van het zoutgehalte van het biotoop, kan dan ook verwacht worden dat een systeem dat rekening houdt met de evaporatie meer geschikt zal zijn voor de studie van de verspreiding van het pekelkreeftje in functie van het klimaat.

In dit opzicht biedt de klimaatsklassifikatie van Thornthwaite betere mogelijkheden. Deze klassifikatie werd op punt gesteld in 1948 en verder uitgewerkt in 1955 en 1957. Zij is gebaseerd op de temperatuur, de neerslag en de evapotranspiratie, d.i. de overgang van water uit de bodem naar de atmosfeer onder vorm van damp en dit zowel door verdamping aan het oppervlak zelf (evaporatie) als door transpiratie door de vegetatie. De uitvoerige bespreking van de uitwerking van dit klassifikatiesysteem zou ons in het kader van deze studie te ver leiden.

Samenvattend kan gesteld worden dat de methode van Thornthwaite gebaseerd is op de berekening van de waterbalans van de bodem uitgaande van de maandelijkse gegevens omtrent de neerslag en potentiële evapotranspiratie. De klimaatsindeling zelf is niet zozeer gesteund op de elementen temperatuur en neerslag doch vooral op de zogenaamde "efficiëntie van de temperatuur" en de "neerslag-efficiëntie". De neerslag-efficiëntie wordt aangegeven door het vochtigheids-type bepaald aan de hand van de vochtigheidsindex (I_m) waarbij

$$I_m = I_p - I_a$$

$$\text{en } I_p = \frac{100s}{n} \quad I_a = \frac{100d}{n}$$

hierbij is I_p : de humiditeitsindex

I_a : de ariditeitsindex

s : jaarlijks surplus

d : jaarlijks deficit

n : jaarlijkse behoefte aan water

Naargelang de waarde van I_m onderscheidt men een 6-tal klimaattypen (zie Tabel XI).

Tabel XI . De klimaattypen in functie van de efficiëntie van de neerslag (naar Thornthwaite en Mather, 1955)

I_m	Symbool	Klimaatype
≥ 100	A	perhumied
99.99 à 80.00	B_4	humied
79.99 à 60.00	B_3	humied
59.99 à 40.00	B_2	humied
39.99 à 20.00	B_1	humied
19.99 à 0.00	C_2	vochtig subhumied
0.00 à -33.3	C_1	droog subhumied
-33.3 à - 66.7	D	semi-aried
-66.7 à - 100	E	aried

Naast de vochtigheidsindex die enkel informatie verstrekt omtrent het globale jaarlijks vochtigheidsbeeld, wordt ook het seizoenaal aspekt van de vochtigheid en/of de droogte gekarakteriseerd. Het is inderdaad belangrijk te weten of een klimaat permanent vochtig of droog is en in welk seizoen de vochtige of droge periode valt. Gebaseerd op de waarde van Ia worden de vochtige klimaten verder ingedeeld in typen met geen of een klein deficit (r), een gematigd deficit in de zomer of winter (s, w) of een groot deficit in de zomer of winter (s₂, w₂). De droge klimaten worden naargelang de waarde van Ip ingedeeld in typen met geen of een klein surplus (d), een gematigd surplus in de zomer of winter (s, w) of een groot surplus in de zomer of winter (s₂, w₂).

De zogenaamde efficiëntie van de temperatuur wordt bepaald door de aangepaste potentiële evapotranspiratie (A.P.E.T), d.i. de hoeveelheid water die onder gemiddelde atmosferische omstandigheden in een éénvormig milieu verbruikt wordt door de evaporatie en transpiratie, aangepast door middel van een korrektiefaktor voor het werkelijk aantal uren zonneschijn per dag. Uitgaande van de waarde van de A.P.E.T. heeft Thornthwaite 5 thermische klimaattypen onderscheiden (zie Tabel XII).

Tabel XII . De klimaattypen in funktie van de efficiëntie van de temperatuur (naar Thornthwaite, 1948)

A.P.E.T. in cm	Symbool	Klimaatype
> 114.00	A'	megathermaal
114.00 tot 99.75	B' ₄	mesothermaal
99.75 tot 85.50	B' ₃	mesothermaal
85.50 tot 71.25	B' ₂	mesothermaal
71.25 tot 57.00	B' ₁	mesothermaal
57.00 tot 42.75	C' ₂	microthermaal
42.75 tot 28.50	C' ₁	microthermaal
28.50 tot 14.25	D	toendra
< 14.25	E	vorst

Daarnaast kan ook de zomerkoncentratie van de temperatuur-efficiëntie weergegeven worden. Daartoe wordt de A.P.E.T. van de 3 warmste zomermaanden procentueel uitgedrukt t.o.v. de jaarlijkse A.P.E.T. Naargelang de waarde van dit procent onderscheidt men de symbolen a' (<48 %) b'₄, b'₃, b'₂, b'₁ (48 % - 68 %), c'₁, c'₂ (68 % - 88 %) en d' (>88 %).

Deze klimaatsklassifikatie volgens Thornthwaite was aanvankelijk slechts voor enkele gebieden gedetailleerd op kaart gebracht (Burgos en Vidal, 1951 ; Carter, 1954). Carter en Mather (1966) geven een goede bespreking van de klimaatsgebieden op de 5 kontinenten samen met kaartenmateriaal. Voor talloze stations verspreid over de gehele wereld zijn de maandelijkse en jaarlijkse waarden van potentiële evapotranspiratie, neerslag, deficit en surplus terug te vinden in Thornthwaite associates (1962, 1963a,b,c, 1964a,b,c, 1965). Deze gegevens die in feite voor elk station de waterbalans van de bodem weergeven, hebben ons in staat gesteld voor elke Artemia-vindplaats de klimaatsformule te berekenen.

Bij de toepassing van het systeem van Thornthwaite dient echter opgemerkt te worden dat de evaporatie van zoutmeren geringer is dan deze van een zoet-wateroppervlak of van een verzadigde bodem. (Harbeck, 1955). Dit is te wijten aan een reductie van de verdamping bij stijgendesaliniteit. Anderzijds is het echter zo dat de aktuele evapotranspiratie in de bodem slechts de potentiële evapotranspiratie evenaart in een periode van potentieel surplus, dus wanneer de neerslag de potentiële evapotranspiratie overtreft. Wij menen dan ook dat in het licht van deze vaststellingen de methode van Thornthwaite goed bruikbaar is voor de klassifikatie van zoutmeren onder diverse klimaattypen.

De indeling van alle gekende Artemia-biotopen volgens de klimaattypen voorgesteld door Thornthwaite is weergegeven in Tabel XIII.

In deze Tabel zijn de perhumiede(A) en de humiede (B_4 - B_1) klimaattypen niet opgenomen om de eenvoudige reden dat geen enkele Artemia-vindplaats aangetroffen wordt in deze gebieden. Uit Tabel XIII valt verder af te leiden dat de overgrote meerderheid der Artemia-biotopen voorkomt in gebieden met een negatieve waarde van de vochtigheidsindex (I_m) - de C'_1 , D-en E-gebieden. Dit zijn streken waar de jaarlijkse evapotranspiratie uitstijgt boven de jaarlijkse neerslag en het jaarlijks deficit groter is dan het jaarlijks surplus. Het voorkomen van Artemia-vindplaatsen in deze gebieden is dan ook logisch vermits slechts in deze gebieden een voldoende hoge saliniteit kan behouden blijven.

Enkele Artemia-biotopen werden echter aangetroffen in het vochtig subhumied C'_2 -gebied (3 % van het totaal). Het is echter opvallend dat al deze vindplaatsen (3 lokaliteiten nabij Bombay, 1 vindplaats te Buenos Aires, 3 biotopen in Bretagne en 1 lokaliteit in Japan) aan de kust gelegen zoutwinningsgebieden zijn.

Tabel XIII. Indeling van de Artemia-vindplaatsen volgens de klimaattypen van Thornthwaite.

Klimaatype	Afrika	Amerika	Australië	Azië	Europa	Wereld	
E	A'	10	24	2	11	-	47
	B'3-4	2	10	2	-	3	17
	B'1-2	-	6	-	-	-	6
	C'1-2	-	-	-	-	-	-
D	A'	4	20	-	4	-	28
	B'3-4	9	2	1	-	24	36
	B'1-2	2	7	-	4	25	38
	C'1-2	-	2	-	-	-	2
C ₁	A'	1	7	2	5	-	15
	B'3-4	3	8	1	1	4	17
	B'1-2	2	20	1	1	30	54
	C'1-2	-	36	-	-	-	36
C ₂	A'	-	-	-	3	-	3
	B'3-4	-	-	-	-	-	-
	B'1-2	1	1	-	2	3	7
	C'1-2	-	-	-	-	-	-

Dit betekent dat deze biotopen gevoed worden door zeewater en dat de mens kan tussenbeide komen om de saliniteit gans het jaar op peil te houden. In Frankrijk gebeurt dit door stockering van pekkel in diepe reservoirs (Richard pers. meded.). In sommige gevallen wordt het bovendrijvend regenwater weggepompt (Jones et al., 1981). In Pomarije wordt de verbinding met de zee gedurende het grootste gedeelte van het jaar gesloten gehouden om saliniteitsverlaging te verhinderen (Caspers, 1957). Verder dient opgemerkt te worden dat behalve voor Japan alle C_2 -lokaliteiten gelegen zijn dichtbij de grens met een C_I klimaattype. Voor wat de Artemia-vindplaats in Japan betreft hebben we trouwens recent vernomen dat de zoutwinning aldaar zou stopgezet zijn en Artemia er niet meer voorkomt (Katsutani, pers. med.).

De belangrijke invloed van de ariditeit op het verspreidingspatroon van Artemia wordt nog beklemtoond bij het onderzoek naar het seizoenaal aspekt van de vochtigheid. Voor meer dan 97 % van de bestudeerde biotopen van de C_I , D- en E-klimaattypen kan immers gedurende gans het jaar geen of slechts een zeer klein surplus waargenomen worden. Deze vaststelling sluit zeer goed aan met de theorie dat Artemia in de natuur slechts aangetroffen wordt in biotopen waar de saliniteit gans het jaar voldoende hoog is. Slechts een paar vindplaatsen kennen een gematigd surplus in de zomer (Tuticorin) of in de winter (Pichelimu en Port Alma). In het zoutwinningsgebied van Port Alma wordt bij hevige regenval overtollig water weggepompt (Jones et al., 1981).

De zeer positieve korrelatie tussen de geografische distributie van Artemia en het vochtigheidstype komt duidelijk tot uiting bij een studie van de vochtigheidsindex van diverse gebieden op eilanden. In Sri Lanka leverde een prospektie naar Artemia 1 vindplaats op, namelijk te Puttalam (Ferdinando pers. meded.). Uit de klimaatkaart van Sri Lanka (Carter, 1954 - Fig 9) blijkt duidelijk dat enkel het noorden van dit eiland en de streek rond Puttalam klimatologisch gezien het voorkomen van Artemia kan toelaten. Een gedetailleerde studie van de klimaatformules van de Hawaii-eilanden, Puerto Rico, en de Dominicaanse Republiek toont aan dat hoewel grote gebieden van deze eilanden gekenmerkt zijn door een hoge precipitatie, precies op deze plaatsen waar Artemia aangetroffen wordt een semi-aried klimaat voorkomt.

Naast het vochtigheidstype blijkt ook de efficiëntie van de temperatuur (zie hoger) de verspreiding van Artemia te limiteren. Geen enkele Artemia-vindplaats kan genoteerd worden in een toendra of vorstklimaat (D', E'). Dit kan enerzijds te wijten zijn aan de belemmering van de ontwikkeling van Artemia bij een continu lage temperatuur; anderzijds kan het effect van de temperatuur-efficiëntie ook onrechtstreeks de kans op het voorkomen van Artemia in deze gebieden minimaliseren. Het is immers zo dat de potentiële evaporatie laag is

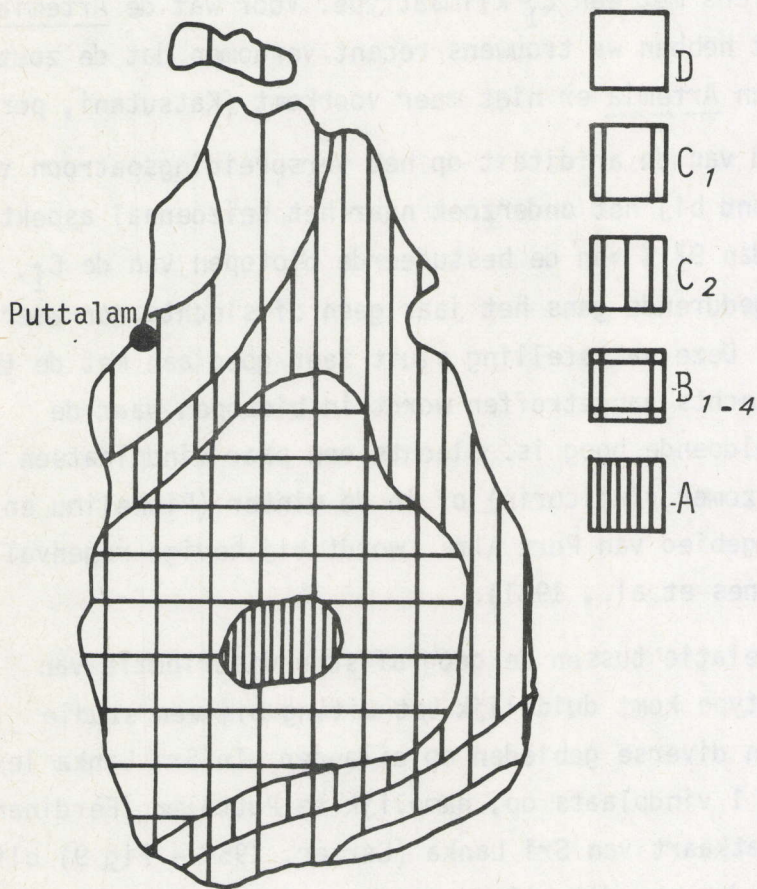


Fig.9. De vochtigheidstypen van Sri Lanka

en een relatief geringe hoeveelheid neerslag reeds een verdunning van het water veroorzaakt. In een D'-klimaat bijvoorbeeld volstaat 30 cm neerslag per jaar om een jaarlijks surplus te bekomen. In een B'₃ klimaat daarentegen is daartoe meer dan 100 cm neerslag vereist.

Het voorkomen van zoutmeren in zeer koude gebieden is echter niet uitgesloten. Op de noordkusten van Alaska aan de Noordelijke Ijszee treedt bijvoorbeeld een semi-arië klimaattype op en ook op Antarctica komen zoutmeren voor (Burton, 1981).

De kwantitatieve verdeling per werelddeel is eerder onregelmatig en dient in verband gebracht te worden met de ongelijkmatige verdeling van de klimaat-typen over de continenten. Dit relatief gering aantal Artemia-biotopen in de E - klimaten is waarschijnlijk onderschat, daar de prospectie in deze moeilijk te bereiken ariëde gebieden logischerwijze beperkt gebleven is.

Als konklusie kan gesteld worden dat er een duidelijk verband bestaat tussen de distributie van Artemia en het klimaattype. Vooral de klimaatsindeling van Thornthwaite, waarbij rekening gehouden wordt met de evaporatie, stelt ons in de mogelijkheid een eenvoudig verband vast te leggen. Deze sterke korrelatie tussen het voorkomen van Artemia en het ariditeitstype laat ons nu toe het potentieel distributiepatroon van Artemia op wereldschaal weer te geven. Dit distributiepatroon, waartoe gebruik gemaakt werd van de klimaatkaarten van Carter en Mather (1966) is weergegeven in Fig. 10. Het spreekt vanzelf dat deze kaart slechts een algemeen beeld verstrekt omtrent de potentiële verspreiding van Artemia en dat op sommige plaatsen specifieke lokale factoren een voor Artemia geschikt (mikro-) klimaat kunnen scheppen. Wanneer we het potentieel distributiepatroon vergelijken met de distributie van de gekende Artemia-vindplaatsen dan is het duidelijk dat in bijna elk kontinent grote klimatologisch gunstige gebieden voorkomen, waar we kunnen verwachten dat er diverse nog niet ontdekte Artemia-vindplaatsen zijn. Vooral Afrika is op dat gebied nog braakliggend terrein met heel wat mogelijkheden ondermeer in Mauritanië, Egypte, Somalië, Ethiopië, Soedan, Kenia, Tanzania, Zuid-Afrika en de kusten van Angola. In Azië kan een grondige prospectie resulteren in nieuwe vindplaatsen in het Nabije Oosten, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan en Turkije. Ook in Rusland zal Artemia wellicht nog in talrijke zoutmeren en kustlagunes aangetroffen worden. (recent bevestigd door Gusev, pers. med. die gewaagd van meer dan 100 vindplaatsen van Artemia rond de Zwarte Zee, Kaspische Zee, ten Zuiden van de Oeral en in Kazachstan). Dit is eveneens het geval voor de kusten van Mexico, Peru en Chili en voor een groot gedeelte van Argentinië.

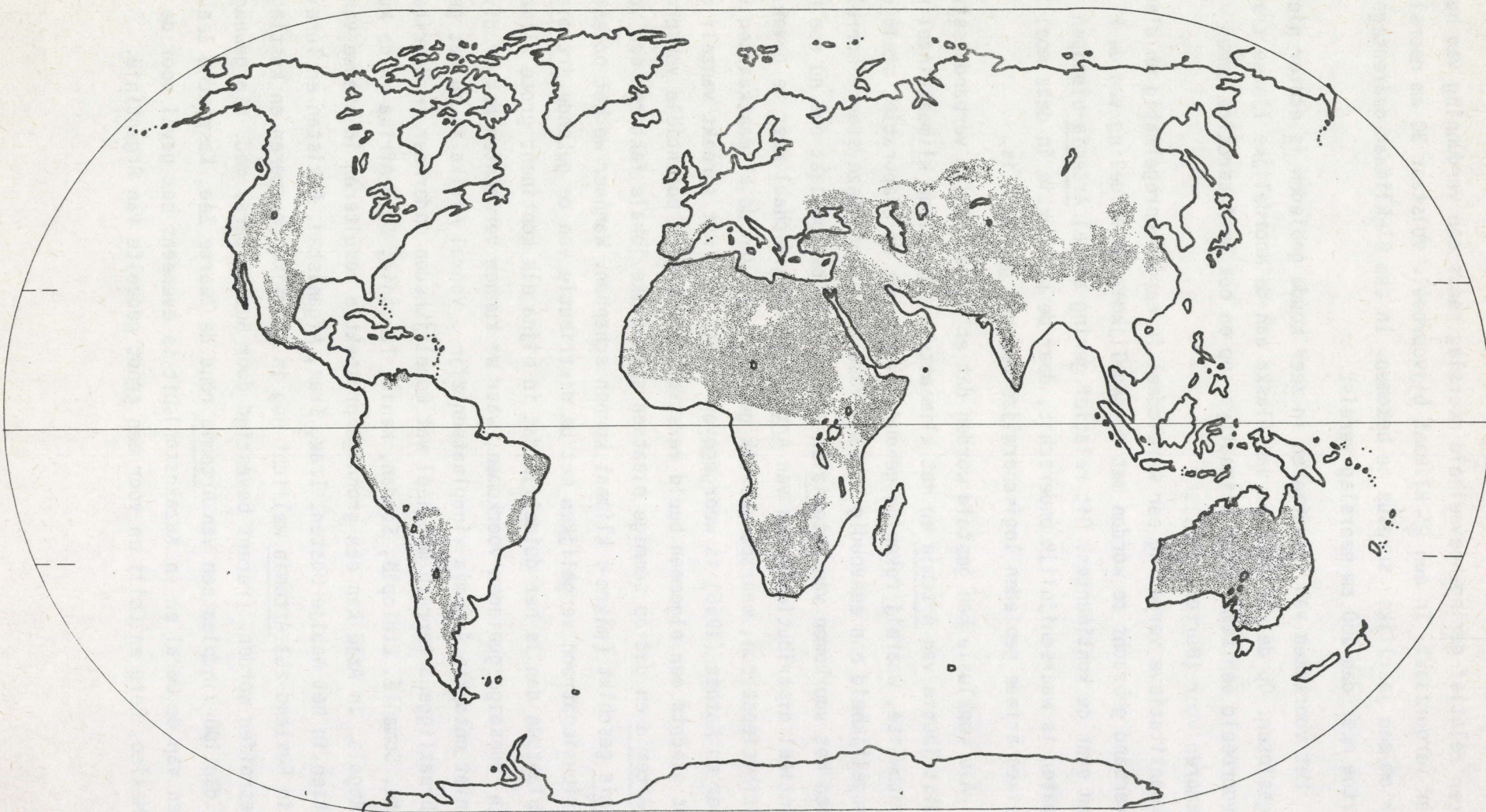


Fig.10. De potentiële distributiearea van Artemia op wereldschaal

De aandacht dient nochtans gevestigd te worden op het feit dat Artemia ook kan afwezig zijn in klimatologisch geschikte gebieden. Diverse andere factoren zijn immers van belang bij het al dan niet voorkomen van het pekelskreeftje in een bepaald gebied. In het binnenland dienen er inderdaad zoutmeren te zijn om enige kans te hebben Artemia aan te treffen. Bovendien moet Artemia op één of andere manier in deze zoutmeren terecht gekomen zijn. Zo is 90 % van de oppervlakte van Australië klimatologisch gezien gunstig voor Artemia en komen er talloze zoutmeren voor doch de geografische isolatie van dit kontinent heeft tot gevolg gehad dat Artemia niet door de vogels verspreid is op dit kontinent. Wellicht om dezelfde reden kwam Artemia tot vóór een paar jaar niet voor in N-O Brazilië.

Anderzijds is het zo dat diverse Artemia-vindplaatsen buiten de op Fig. 10 aangeduide gebieden voorkomen . Dit is echter enkel het geval voor zoutwinningsgebieden. De mens die in deze gebieden de saliniteit artificieel hoog houdt speelt hier dus een bepalende rol. In dit verband dient tenslotte opgemerkt dat de term natuurlijke vindplaats van Artemia in feite niet strikt mag genomen worden. Het is immers onmogelijk te achterhalen in welke mate de mens een rol gespeeld heeft in het scheppen van Artemia-biotopen.

HOOFDSTUK 3. INOKULATIE EN TRANSPLANTATIE VAN ARTEMIA

De studie van de geografische verspreiding van Artemia heeft uitgewezen dat het pekelkreeftje geen ubiquist organisme is. Het wordt inderdaad slechts aangetroffen in biotopen die onafgebroken een voldoende hoge saliniteit bezitten. Om die reden komt Artemia niet voor in de duizenden hektaren zoutpannen die enkel in het droogseizoen een voldoende saliniteit hebben, in de Filippijnen, Vietnam, Indonesië, Thailand, enz... Bovendien is Artemia evenmin een kosmopoliet organisme en wordt dus niet in alle natuurlijke zoutmeren of aangelegde zoutwinningsgebieden aangetroffen. Zo vindt men geen pekelkreeftjes in talrijke zoutwinningsgebieden in de Caraïben (Slessor, pers. meded.) en Malta (Saliba pers. meded.) en in de zeer verspreide zoutmeren in Australië (Geddes, 1979, 1980). De afwezigheid van Artemia in deze op het eerste zicht geschikte biotopen is wellicht te wijten aan het feit dat Artemia de kans niet kreeg deze plaatsen te kolonizeren via natuurlijke dispersievectoren.

Dit alles betekent dat in de gebieden waar Artemia niet natuurlijk voorkomt, de expansie van de intensieve aquakultuur beperkt is door en gebonden is aan de import van kostelijk cystenmateriaal. Hierbij denken wij vooral aan de ontwikkelingslanden in Azië waar de aquakultuur een belangrijke plaats inneemt bij de verbetering van de voedingstoestand van de lokale bevolking; immers 80 % van de wereldproduktie van aquakultuurorganismen gebeurt in Azië (Rabanal, 1974). Het is dan ook logisch dat men gedurende de laatste jaren vooral in deze gebieden steeds meer en meer geïnteresseerd is geworden in de lokale produktie van Artemia-cysten, enerzijds om onafhankelijk te kunnen worden van de soms vrij onregelmatige en meestal erg kostelijke import van cysten en anderzijds om door de produktie van cysten over een extra bron van inkomsten te kunnen beschikken.

Het enten van zoutwinningsgebieden met Artemia om een verhoogde en verbeterde zoutproduktie te bekomen is niet nieuw (zie Hoofdstuk 2.2.). In dit geval gaat het meestal om een transplantatie van Artemia, d.w.z. dat een éénmalige ent voldoende is om de overleving van de soort in de betreffende lokaliteit te verzekeren.

Naast transplantaties kan men echter eveneens inokulaties uitvoeren. Hiermee bedoelen we seizoenale produkties van Artemia in biotopen die slechts gedurende een bepaald deel van het jaar (meestal het droogseizoen) gunstige kondities opleveren voor een extensieve Artemia-kweek.

Artemia leent zich uitstekend voor dergelijke seizoenale produkties : inokulatie in kondities waarbij de ovovivipare reproductie bevoordeligd wordt, laat toe met een klein cysten-inokulum te starten en na korte tijd een aanzienlijke populatie te bekomen. Bijsturing van de zoutgehaltes en/of organische fertilisatie kan tenslotte de cystenproductie induceren. Voor het produktieseizoen ten einde loopt (bvb. door regenval die saliniteitsdaling voor gevolg heeft en dus predatiekansen vergroot) kunnen de resterende Artemia geogst worden.

Een eerste transplantatieproject van Artemia werd door Dr. Helfrich en zijn medewerkers uitgewerkt in de talrijke saliene kustmeren van Christmas Island (Helfrich, 1973 ; D'Agostino en Yep, 1977 ; D'Agostino, 1978). De cystenproductie bereikte echter bijlange na niet de vooropgestelde en verwachte waarde. De oorzaak van het falen dient enerzijds gezocht bij de eerder lage saliniteit van de zoutmeren (48-101 ‰) wat tot gevolg had dat diverse predatoren overleefden (D'Agostino, 1978). Anderzijds hadden de zoutmeren een uitgesproken oligotroof karakter (Helfrich, 1973) zodat de produktiviteit van het plankton en bijgevolg ook deze van Artemia vrij gering was.

In de zoutpannen van Macau (Brazilië) die zich uitstrekken over een oppervlakte van verschillende duizenden hektaren (zie Sorgeloos, 1979b) werd een transplantatie uitgevoerd die heel wat meer sukses kende. Het water waaruit het zout gewonnen wordt in Macau is afkomstig van een mangrovegebied. In april 1977 werden de nauplii ontloken uit 250 g cysten van San Francisco Bay verdeeld over enkele verdampingsbekkers van het zoutwinningsgebied. In december van hetzelfde jaar had men reeds 6 ton cysten geoogst en in november 1978 was dit cijfer reeds opgelopen tot 25 ton (Sorgeloos, 1979b). De overvloedige regenval in het voorjaar van 1980 veroorzaakte een aanzienlijke achteruitgang van de cystenproductie, maar inmiddels zijn opnieuw grote kwantiteiten cysten van Macau op de markt (Von Tilburg pers. meded.). Bovendien is Artemia door de lokale watervogels verspreid in gans het Rio Grande do Norte gebied en worden, nu in verschillende zoutwinningsgebieden ook daar belangrijke cystenhoeveelheden geoogst en gekommercialiseerd (Schulz, pers. meded.).

De eerste inokulatietesten met Artemia werden uitgevoerd in 1978 in de zoutpannen van Barotac Nuevo (Filippijnen). Bij het begin van het droogseizoen (februari) werden nauplii geënt afkomstig van 100 g San Francisco Bay-cysten (meer details omtrent de inokulatieomstandigheden zijn te vinden in Sorgeloos, 1978 en De los Santos et al., 1980).

Na een 3-tal maanden werden in totaal ongeveer 16 kg cysten en 150 kg adulte biomassa geoogst uit een produktie-oppervlakte van enkele hektaren.

In 1979 werd een nieuwe inokulatie uitgevoerd in de zoutpannen van Barotac Nuevo en werd gedurende de periode maart-mei een produktiecijfer gehaald van 620 g cysten per hectare en per dag.

Inokulatieproeven uitgevoerd in kleine zoutpannen in Thailand lieten toe te besluiten dat aldaar in het 4-maand durende droogseizoen een produktiecijfer van 20 kg cysten per hectare kan bereikt worden (Vos en Tansutapanit, 1979).

Volgens recente gegevens is de produktiecapaciteit van de Thaïse zoutpannen sterk verhoogd tot 100 kg cysten per hectare en per seizoen als gevolg van het gebruik van grote hoeveelheden kippemest als organische aanrijking van de zoutpannen. Royan (1981) kon een produktie van 30 kg cysten per hectare noteren in de zoutpannen van Mundra (Indië).

De produktieresultaten die tot nog toe bekomen werden bij de artificiële inokulatie van Artemia in zoutpannen laat ons toe te besluiten dat deze methode enorme mogelijkheden in het vooruitzicht stelt voor de verdere ontwikkeling van de aquakultuur vooral in die landen die tot nog toe geen of onvoldoende lokale cysten tot hun beschikking hadden.

Het dient echter onderstreept dat zowel de produktiemogelijkheden als de uitvoeringsmodaliteiten van inokulaties of transplantaties niet kunnen veralgemeend worden, doch in ruime mate verschillen van streek tot streek.

De eerste voorwaarde voor een succesvolle inokulatie met Artemia is uiteraard de aanwezigheid van kweekvijvers met pekelwater (minimum 80 ‰). Komen hiervoor in aanmerking : natuurlijke zoutmeren, aangelegde zoutpannen, kweekvijvers in de omgeving van zoutwinningsgebieden of evaporatievijvers voor zeewater (Vos en De la Rosa, 1980).

Een zeer belangrijke faktor bij de planning van de plaatskeuze voor de produktie van Artemia is het klimaat, en meer bepaald de evaporatie-precipitatie verhouding gedurende het jaar. Deze zal inderdaad aangeven of een éénmalige inokulatie volstaat om een transplantatie van Artemia in het beschouwde gebied te bewerkstelligen. Klimatologisch gezien is dit het geval voor de gebieden die ressorteren onder de vochtigheidstypes D en E volgens de klassifikatie van Thornthwaite (zie Hoofdstuk 2.3). Droge subhumiede gebieden (C1 volgens Thornthwaite) bieden in dit opzicht eveneens gunstige perspectieven op voorwaarde dat gedurende gans het jaar geen periode van watersurplus voorkomt. Geografisch gezien stemmen de gebieden waar een transplantatie van Artemia kan uitgevoerd worden overeen met de gebieden waar potentiële Artemia-biotopen kunnen aangetroffen worden (zie Fig. 10, Hoofdstuk 2.3.).

De produktie van Artemia is echter niet uitgesloten in de gebieden die geen aried of semi-ariëd klimaat bezitten. Zoals uit de aangehaalde inokulatietesten gebleken is, volstaat het immers dat het klimaat gekenmerkt is door een droogseizoen waarbij de evaporatie de precipitatie gedurende een voldoende lange periode in ruime mate overtreft. Het is echter duidelijk dat de plaatsselectie voor Artemia-inokulaties een grondige kennis van het lokale klimaat vereist. Zo kon uit de gegevens van Thornthwaite associates (1963) opgemaakt worden dat voor het Christmas Island de evaporatie zeker niet gans het jaar de precipitatie overtreft.

Daar het klimaat aanzienlijk kan variëren onder invloed van lokale kondities zoals de hoogteligging, de nabijheid van de zee en de nabijheid van gebergten is het gebruik van het weinig gedetailleerd kaartenmateriaal van de verschillende klimaatsgebieden (Carter en Mather, 1966) echter ontoereikend voor de selectie van de klimatologisch best geschikte inokulatieplaatsen. Bovendien is hier niet alleen het vochtigheidstype doch ook de verdeling van de neerslag en de evaporatie over de verschillende maanden van belang. In de werken van Thornthwaite associates (1962, 1963 a,b,c, 1964 a,b,c, 1965) zijn de gemiddelde klimatologische gegevens en waterbalansen gepubliceerd voor meer dan 9000 stations verspreid over de hele wereld.

Alhoewel deze gegevens niet voor iedere plaats de exakte klimatologische toestand weergeven en het hier gaat om gemiddelden, vormen zij toch reeds een belangrijke leidraad bij de selectie van potentieel geschikte inokulatieplaatsen.

In het kader van onze nauwe samenwerking in verband met de produktie van Artemia-cysten en-biomassa in de Filippijnen en Peru werden hier aan de hand van gegevens van Thornthwaite associates (1963 b, 1965) voor deze twee landen de produktie-mogelijkheden voor Artemia opgespoord.

De Filippijnen zijn over het algemeen gekenmerkt door een tropisch en vochtig klimaat waarbij op jaarbasis de neerslag de evaporatie overtreft. Dit impliceert dat er geen natuurlijke Artemia-vindplaatsen kunnen aangetroffen worden en dat ook de transplantatie van Artemia uitgesloten is. Uit Fig. 11 blijkt echter dat er in verschillende gebieden van de Filippijnen een droogseizoen voorkomt. Hierbij werd de duur van het droogseizoen gelijkgesteld aan het aantal maanden dat de evaporatie de precipitatie overtrof en een duidelijk waterdeficiet optrad. Dit is vooral het geval in het westelijk gedeelte van de Filippijnen. De duur van het droogseizoen varieert aanzienlijk (zie Fig. 11). Het spreekt vanzelf dat een langer droogseizoen betere mogelijkheden biedt voor de cysten-produktie. Klimatologisch gezien zijn dus de gebieden in het zuidwesten van Mindanao en het zuiden van Negros het best geschikt. Diverse andere gebieden zoals het westelijk gedeelte van Luzon, Mindoro en Panay zijn echter eveneens geschikt en dit vooral omdat de hoge temperaturen een korte generatietijd waarborgen (De los Santos et al., 1980). De oostelijke kusten van de Filippijnen die ook in de winter onder invloed van de noord-oost passaat overvloedige regenval kennen (Boerman, 1949) komen om die reden dan ook niet in aanmerking voor Artemia-inokulatie.

In Peru treffen we een totaal andere situatie aan. Zoals blijkt uit Fig. 12 valt gans de kustzone onder een aried klimaat waarbij gedurende gans het jaar geen watersurplus optreedt. Deze zone is dus op basis van haar ariditeit geschikt voor een transplantatie met Artemia.

Het binnenland daarentegen is gekenmerkt door een subhumied tot vochtig klimaat en zou dus niet in aanmerking komen. We dienen hier echter aan toe te voegen dat in het binnenland slechts voor een beperkt aantal stations gegevens beschikbaar zijn, zodat een veralgemenende besluitvorming voorbarig zou zijn. In enkele lokaliteiten komt er een droogseizoen voor, doch vermits men daar een gematigd klimaat kent met

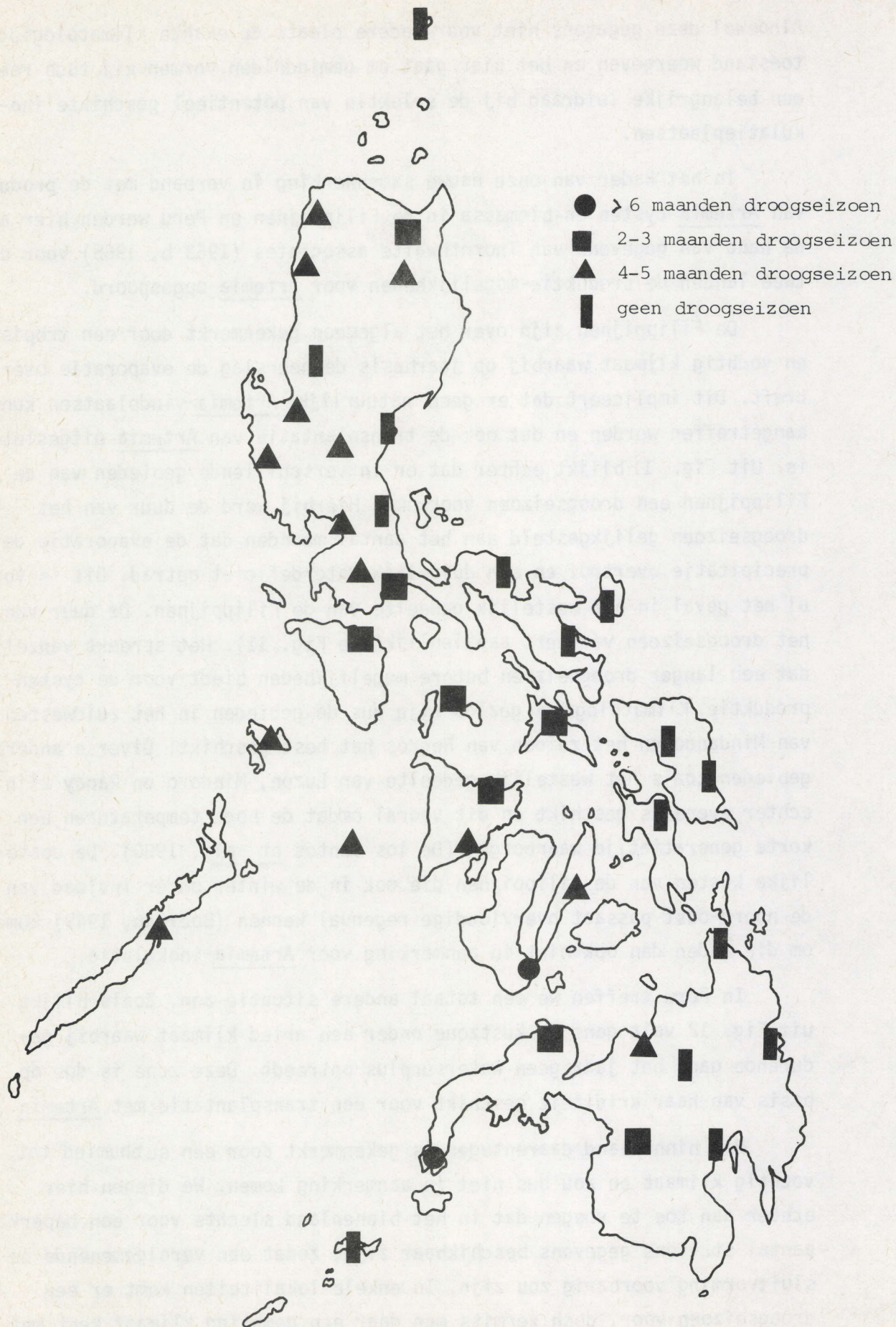


Fig.11. De seizoenale verdeling van de neerslag in de Filippijnen

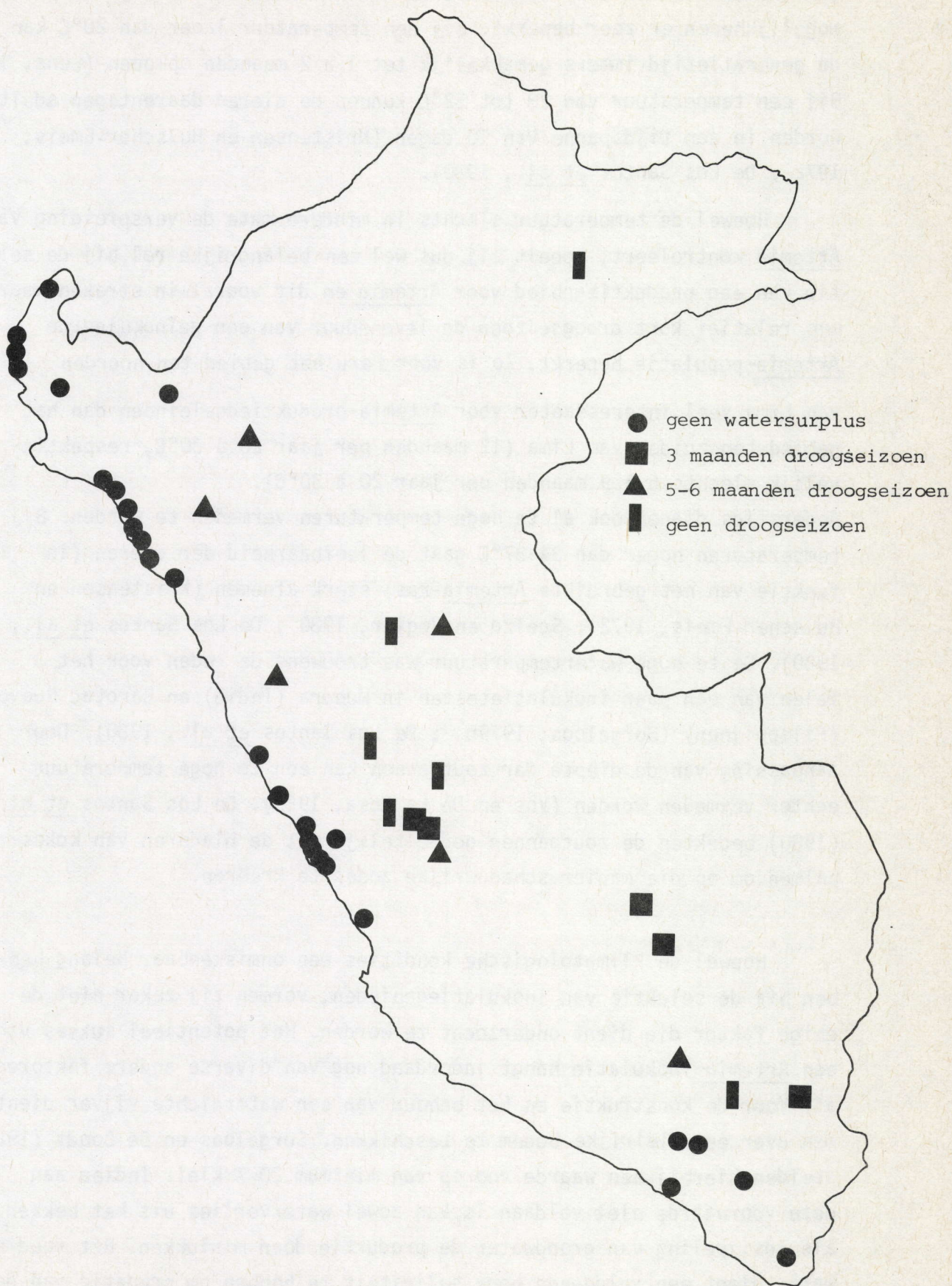


Fig.12. De seizoenale verdeling van de neerslag in Peru

gemiddelde maandelijksse temperaturen van maximaal 15 °C zijn de produktiemogelijkheden er zeer beperkt. Bij een temperatuur lager dan 20°C kan de generatietijd immers gemakkelijk tot 1 à 2 maanden oplopen (Lenz, 1980). Bij een temperatuur van 28 tot 32°C kunnen de dieren daarentegen adult worden in een tijdspanne van 10 dagen (Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972 ; De Los Santos et al., 1980).

Hoewel de temperatuur slechts in mindere mate de verspreiding van Artemia controleert, speelt zij dus wel een belangrijke rol bij de selectie van een produktiegebied voor Artemia en dit vooral in streken waar een relatief kort droogseizoen de levensduur van een geïnokuleerde Artemia-populatie beperkt. Zo is voor Peru het gebied ten noorden van Lima veel interessanter voor Artemia-produktiedoeleinden dan het gebied ten zuiden van Lima (12 maanden per jaar 20 à 30°C, respectievelijk slechts 6 à 9 maanden per jaar 20 à 30°C). Anderzijds dienen ook al te hoge temperaturen vermeden te worden. Bij temperaturen hoger dan 34-37°C gaat de leefbaarheid der dieren (in functie van het gebruikte Artemia-ras) sterk afnemen (Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972 ; Scelzo en Voglar, 1980 ; De Los Santos et al., 1980). De te hoge watertemperatuur was trouwens de reden voor het falen van een paar inokulatietesten in Mundra (Indië) en Barotac Nuevo (Filippijnen) (Sorgeloos, 1979b ; De Los Santos et al., 1980). Door aanpassing van de diepte der zoutpannen kan een te hoge temperatuur echter vermeden worden (Vos en De La Rosa, 1980). De Los Santos et al., (1980) bedekten de zoutpannen gedeeltelijk met de bladeren van kokospalmen om op die manier schaduwrijke zones te kreëren.

Hoewel de klimatologische kondities een onmiskenbaar belang hebben bij de selectie van inokulatiegebieden, vormen zij zeker niet de enige faktor die dient onderzocht te worden. Het potentieel sukses van een Artemia-inokulatie hangt inderdaad nog van diverse andere faktoren af. Voor de konstruktie en het behoud van een waterdichte vijver dient men over een kleirijke bodem te beschikken. Sorgeloos en De Boodt (1982) stelden hierbij een waarde voorop van minimum 20 % klei. Indien aan deze voorwaarde niet voldaan is, kan zowel waterverlies uit het bekken als insijpeling van grondwater de produktie doen mislukken. Het voedingswater dient een voldoende hoge saliniteit te hebben om predatie van de

geïntroduceerde Artemia-larven te voorkomen. Vos en De La Rosa (1980) rapporteren dat de saliniteit van het voedingswater bij de inokulatie minimaal 70 à 80 ‰ dient te bedragen. Verder moet een regelmatige toevoer van vers zoutrijk water mogelijk zijn. Het water mag bovendien niet gekontamineerd zijn met pesticiden of ander pollutanten, ten einde het geproduceerde materiaal optimaal te kunnen valoriseren voor gebruik in de aquakultuur (zie Hoofdstuk 13). Om een goede overleving en groei van de geïntroduceerde Artemia-larven te verzekeren dient eveneens voldoende voedsel aanwezig te zijn. In dit opzicht is het water afkomstig uit een mangrovegebied zeer produktief (Sorgeloos, 1979b). Indien de nutriëntenrijkdom van het water echter te laag is, kan een bemesting met anorganische fertilisatoren of organische meststoffen zoals kipmest (Dwivedi et al., 1980 ; Royan, 1980 ; Vos en De La Rosa, 1980) tot gunstige resultaten leiden.

Tenslotte dienen bij de plaatsselectie eveneens logistieke aspecten zoals de bereikbaarheid van de plaats en de afstand van belangrijke aquakultuur- of distributiecentra in beschouwing genomen te worden. Socio-ekonomische overwegingen, zoals de behoeften van de lokale bevolking en de mogelijke lokale toepassingsgebieden, mogen evenmin uit het oog verloren worden.

Uit deze beschouwingen kunnen we alvast konkluderen dat Artemia-inokulaties en transplantaties zeker niet lukraak mogen uitgevoerd worden, doch slechts na een grondige studie van de lokale kondities en mogelijkheden. Vooral bij een transplantatie waarbij een éénmalige ent met Artemia kan volstaan om een blijvende Artemia-populatie te bekomen, dient met de nodige omzichtigheid tewerk gegaan te worden. Een zeker niet te verwaarlozen aspect hierbij is de selectie van het best geschikt Artemia-ras. De diverse Artemia-rassen komen immers voor in biotopen met zeer uiteenlopende abiotische en biotische kondities (zie Hoofdstuk 4). Verder is het thans reeds duidelijk dat er tussen deze rassen een aanzienlijke genetische differentiatie voorkomt (zie Hoofdstuk 5). Het komt er dus nu op aan om voor inokulatie en transplantatieprojekten de best geschikte rassen te selekteren, die de lokale kondities kunnen tolereren en goede produktieresultaten opleveren. Tot nog toe is er daaromtrent nog niets gekend. De resultaten die verder in dit werk zullen besproken worden kunnen echter reeds als een eerste leidraad gebruikt worden voor de selectie van geschikte Artemia-rassen.

De zogenoemde ekologische gevaren verbonden aan transplantaties , zoals de uitroeiing van bepaalde soorten en de introductie van ziekten (zie Rosenthal, 1978), zijn voor wat Artemia betreft tot een minimum herleid daar dit organisme enkel leeft in extreme kondities waar andere organismen niet voorkomen. Om dezelfde reden treedt de kweek van Artemia in de natuur evenmin in konkurrentie met de traditionele landbouw of vis-teelt. Integendeel, het geïntegreerd gebruik van de zoutpannen voor de kweek van vissen en crustaceën in het regenseizoen en voor de produktie van Artemia naast zout in het droogseizoen kan de rentabiliteit van de kwekerijen aanzienlijk verhogen (De Los Santos et al., 1980). Men streeft bovendien meer en meer naar een vertikaal geïntegreerd aquakultuursysteem waarbij zowel het voedsel, in casu Artemia, als de commerciële aquakultuurorganismen op eenzelfde plaats geproduceerd worden (Sorgeloos, 1983).

Naast de produktie van dierlijke eiwitten en cysten kunnen inokulatieprojekten verder een belangrijke bijdrage leveren tot de kennis van Artemia. Zo kan het genotypisch of fenotypisch karakter van biologische karakteristieken opgespoord worden door inokulatie in bepaalde konstante of variërende ekologische kondities. Door meng-inokulaties, parallele testen of konsekwatieve testen, kunnen de best geschikte Artemia-rassen geselecteerd worden. Een studie van het geïnokuleerd materiaal kan verder een inzicht verschaffen omtrent de adaptatiecapaciteit van het pekel-kreeftje.

HOOFDSTUK 4. EKOLOGIE DER ARTEMIA BIOTOPEN

In vergelijking tot de overige aspecten van het Artemia-onderzoek zijn de ekologische studies tot nog toe erg beperkt gebleven (Persoone en Sorgeloos, 1980). Dit is, althans gedeeltelijk, te wijten aan de geografische ligging der Artemia-zoutmeren in min of meer ariede gebieden die moeilijk bereikbaar zijn (Williams, 1981a). Anderzijds is het zo dat talrijke ekologen van mening zijn dat de fysische omgeving, de biota en de trofische structuur van zoutmeren in zulke mate verschillend zijn van deze van zoetwater en mariene systemen, dat de studie van de ecologie van zoutmeren niet veel kan bijdragen tot de kennis van de functie van de meer klassieke ecosystemen (Collins, 1977). Vanuit ekologisch standpunt is de studie van zoutmeren nochtans aantrekkelijk gezien de geringe complexiteit van deze ecosystemen : "whereas it will always be difficult to quantify exactly and compare the trophic dynamic relationships of fresh waters, the reduced species diversity and simplified trophic structure derived from the absence of fish and macrophytes and the presence of decreased habitat heterogeneity of salt lakes make them considerably less difficult to study in this way" (Williams, 1972).

4.1. Fysische karakteristieken

Zoals reeds aangestipt werd in hoofdstuk 2.1. kunnen de Artemia - biotopen onderverdeeld worden in 2 grote categorieën:

- hypersaliene kustlagunes, in de meeste gevallen uitgebouwd tot of gekoppeld aan operationele zoutwinningsgebieden
- inlandse zoutmeren.

Een hypersaliene kustlagune kan gedefinieerd worden als een biotoop min of meer in rechtstreekse verbinding met de zee, waarin de saliniteit gradueel toeneemt tot een waarde hoger dan 40-50 ‰. daar de evaporatie de watertoevoer overtreft (Hedgpeth, 1957). Een voorbeeld van het saliniteitsverloop in dergelijke kustlagune is geïllustreerd in Fig. 13.

Hoewel kustlagunes 13 % van de kusten innemen (Lasserre, 1979 ; Barnes, 1980) is het voorkomen van hypersaliene kustlagunes uiteraard beperkt tot de tropische en subtropische zones waar de evaporatie hoge waarden kan aan nemen. Opdat dergelijke lagune een geschikt biotoop zou vormen voor Artemia dient de saliniteit tenminste in een bepaald gedeelte van de lagune hoger te zijn dan 90-100 ‰, zoniet zullen mariene predatoren met hoge saliniteits-tolerantie de Artemia-populatie elimineren.

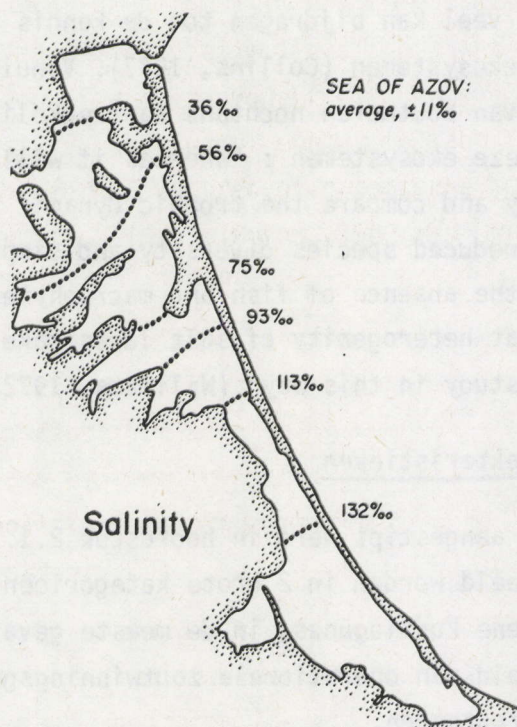


Fig.13. Het saliniteitsverloop in een kustlagune (naar Hedgpeth , 1957)

Naast de zogenoemde open of gedeeltelijk gesloten lagunes kunnen ook lagunes aangetroffen worden die volledig van de zee gescheiden zijn door een duinen-barrière en slechts onregelmatig door zeewater gevoed worden (Bauld, 1981). De natuurlijke kustlagunes vormen een minoriteit voor wat betreft het voorkomen van Artemia. Enkele kustlagunes waar Artemia aangetroffen wordt, zijn te vinden op de Bahama's (Slessor, pers. meded.), Bonaire, Baya California (Bauld 1981), Los Roques (Perrez, pers. meded.) en Delta del Ebro (Barnes, 1980).

De overgrote meerderheid aan de kust gelegen Artemia-vindplaatsen komen voor in operationele zoutwinningsgebieden, de zogenoemde "solar salt works". Het principe van dergelijk zoutwinningsgebied berust op de evaporatie van het zeewater in een reeks onderling verbonden, ondiepe bekkens met stijgende saliniteit (Davis, 1978, 1980). Het zeewater komt het eerste bekken binnen - gravitair, via pompen of kanalen - en na stijging van de saliniteit door evaporatie laat men het in een volgend bekken stromen. Deze procedure loopt door tot het water verzadigd is aan NaCl. Daarop wordt de pekkel in kristallisatiebekkens gebracht, waar de NaCl precipiteert.

De tweede categorie Artemia-biotopen zijn de inlandse zoutmeren. Deze vertonen een enorme verscheidenheid voor wat betreft hun afmetingen. Artemia wordt immers zowel aangetroffen in ondiepe kuilen in de woestijnvlakten van Irak (Al-Uthman, 1971) als in reusachtige zoutmeren zoals Great Salt Lake (oppervlakte 4352 km^2 , Stephens en Gillespie, 1976) en Lake Urmia (oppervlakte 5500 km^2 , Löffler, 1961). Vermits één van de voorwaarden om een blijvend zoutmeer te vormen een beperkte waterafvoer is (Eugster en Hardie, 1978), zijn de inlandse Artemia-biotopen gesloten meren zonder waterafvoer (Langbein, 1961). Ze kunnen onderverdeeld worden in permanente meren die gedurende gans het jaar water bevatten, zoals bijvoorbeeld Mono Lake en Great Salt Lake (Mason, 1967; Stephens en Gillespie, 1976), en meren die bij extreme droogte geen water meer bevatten zoals Lake Abert (Langbein, 1961) en zoutmeren in Irak (Khalaf et al., 1977) en in zogenoemde "dry lakes" die op onregelmatige tijdstippen droogstaan zoals de "Playa's van Texas (Horne, 1974). De meeste Artemia-biotopen zijn vrij ondiep (Williams, 1972) en vertonen geen of geringe stratifikatie. Artemia kan echter evenzeer aangetroffen worden in meromictische meren gekenmerkt door een chemische stratifikatie met onderaan een monimolimnion, een zoutrijke anoxische laag die zich niet mengt met het

mixolimnion (Walker, 1974). Voorbeelden van dergelijke Artemia-biotopen zijn : Soap Lake, Hot Lake (Andersen, 1958 a,b ; Walker, 1974) en Solar Lake (Eckstein, 1970).

4.2. De abiotische en biotische karakteristieken

4.2.1. De saliniteit

De saliniteit, de abiotische faktor die logischerwijze de meeste aandacht kreeg bij de ekologische studie der Artemia-biotopen, neemt voor praktisch elk zoutmeer een andere waarde aan. Het gemiddeld zoutgehalte varieert van 54 ‰ in Mono Lake (Bowen et al., 1978) tot meer dan 300 ‰ in de noordelijke arm van Great Salt Lake (Cronin en Post, 1977) en in Wadi Natrun (Bauld, 1981). De saliniteit is echter ook binnen eenzelfde biotoop aan enorme fluktuaties onderhevig. Bij een studie van de evolutie van het zoutgehalte in het zoutmeer van Little Manitou stelde Hammer (1978) vast dat tussen 1920 en 1947 de saliniteit praktisch kontinu gestegen was van 80 ‰ tot 180 ‰. De volgende 10 jaar trad dan weer een saliniteitsdaling op tot 100 ‰. Na een nieuwe stijging van het zoutgehalte tot 240 ‰ in 1965 is de saliniteit thans teruggevallen tot op 100 ‰. In Great Salt Lake bedroeg de saliniteit op het einde van de 19de eeuw 150 ‰ ; in 1940 kon een waarde van 270 ‰ genoteerd worden (Woodbury, 1949). Deze saliniteitsveranderingen kunnen te wijten zijn aan menselijke interventie. Zo is de recente daling van het zoutgehalte in het zoutmeer van Little Manitou toe te schrijven aan wateraanvoer vanuit de Saskatchewan rivier door de lokale waterdistributiemaatschappij (Hammer, 1978). Great Salt Lake is in 1957 in twee verdeeld door de aanleg van een spoorweg. In het zuidelijke gedeelte van dit zoutmeer, dat in ruime mate gevoed wordt door oppervlaktewater, daalt de saliniteit van jaar tot jaar. Het noordelijk gedeelte daarentegen, dat praktisch geen aanvoer van oppervlaktewater krijgt, is thans praktisch een gesatureerde pekeloplossing geworden (Stephens en Gillespie, 1972 ; Post, 1981).

De saliniteitsverschuivingen in de loop der jaren zijn echter meestal het gevolg van de wisselende evaporatie en precipitatiecyclussen (Hammer, 1978). Dit is eveneens het geval voor de seizoenale fluktuaties die zich in de zoutmeren kunnen voordoen. De omvang van deze saliniteitsvariaties is zeker niet te onderschatten. In het Zuni Salt Lake daalt de saliniteit van 350 ‰ in de vroege zomer tot 50 ‰ in het vroege najaar (Brad-

bury, 1971) ; in het zoutmeer van Boca Chica varieert de saliniteit tussen januari en juni van 172 tot 288 ‰ (Scelzo en Voglar, 1980).

Deze fluktuaties in saliniteit zijn des te meer uitgesproken naarmate de verhouding oppervlakte-diepte toeneemt. Zoals hoger reeds aangestipt, is het zelfs geen zeldzaamheid dat zoutmeren bewoond door Artemia gedurende een gedeelte van het jaar uitdrogen.

Niet alleen in de zoutmeren doch ook in de zoutwinningsgebieden varieert de saliniteit in functie van het seizoen. Zo schommelt in de zoutpannen van San Francisco Bay de saliniteit van 61 tot 154 ‰ (Carpelan, 1957).

Tenslotte zijn er de meromiktische zoutmeren die gekenmerkt zijn door een duidelijke saliniteitsgradient in het meer zelf. In Solar Lake is het monimolimnion gans het jaar door verzadigd aan CaSO_4 , terwijl in het mixolimnion de saliniteit varieert van 70 tot 245 ‰ (Eckstein, 1970).

Het zoutgehalte in de Artemia-biotopen en vooral de seizoenale fluktuaties van de saliniteit spelen een belangrijke rol bij de herbevolking van deze biotopen. Bij een daling van de saliniteit tot een voldoende lage waarde, verschillend van ras tot ras (Collins, 1977 ; Geddes, 1981), zullen de cysten van het pekelkreeftje, die geproduceerd werden wanneer de kondities ongunstig geworden waren, immers tot ontluiding komen en aldus aanleiding geven tot een nieuwe Artemia-populatie. De invloed van de saliniteit op de verdere ontwikkeling van de Artemia-populatie in de natuur blijkt echter niet direkt van belang te zijn (Rooth, 1965 ; Lenz, 1980 ; Scelzo en Voglar, 1980) op voorwaarde natuurlijk dat predatoren geëlimineerd worden. Dit kon enigszins verwacht worden daar het pekelkreeftje unieke adaptatiemechanismen bezit om aan extreme saliniteten en saliniteitsveranderingen te kunnen weerstaan (zie Hoofdstuk 2.1.). Bij zeer hoge saliniteten (320 ‰) is de ontwikkeling van Artemia echter vrij beperkt.

4.2.2. De ionensamenstelling

Alle aan de kust gelegen Artemia-biotopen zijn thalassohalien, met andere woorden zij bezitten een ionensamenstelling gelijkaardig aan deze van zeewater. De inlandse Artemia-zoutmeren kunnen echter onderverdeeld worden in thalassohaliene en athalassohaliene biotopen. De ionensamenstelling van deze laatste groep is duidelijk verschillend van deze van zeewater.

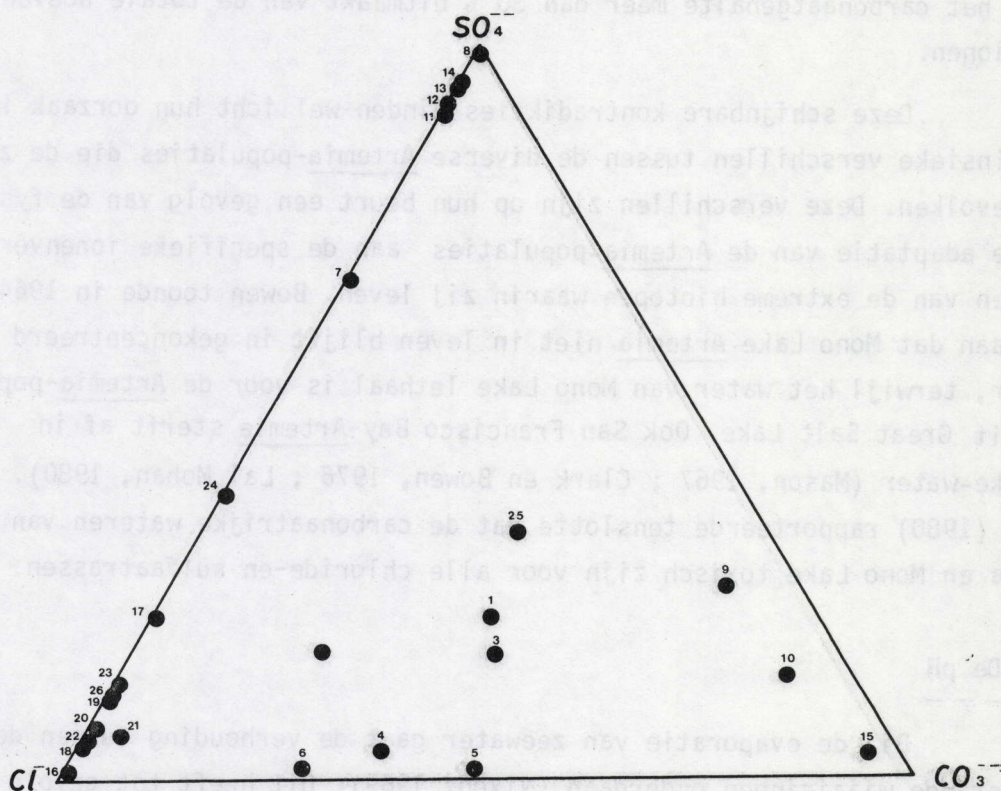
Op basis van het belangrijkste anion worden ze onderverdeeld in chloride-, sulfaat- en carbonaatmeren (Hutchinson, 1957).

Uitgaande van een kompilatie van literatuurgegevens in verband met de ionensamenstelling van diverse Artemia-biotopen (Hutchinson, 1957 ; Andersen, 1958 b ; Löffler, 1961 ; Livingston, 1963 ; Cole en Brown, 1967 ; Eckstein, 1970 ; Mc Carraher, 1970 ; Bradbury, 1971 ; Stephens en Gillespie, 1976 ; Post, 1977 b ; Hammer, 1978) is in Fig. 14 de anionische samenstelling van diverse Artemia-biotopen voorgesteld.

Het is duidelijk dat de ionensamenstelling der Artemia-biotopen enorm kan uiteenlopen. De $\text{Cl}^-/\text{CO}_3^{--}$ verhouding varieert van 0.09 in Cook Lake tot 810 in Lake Urmia. De $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^{--}$ verhouding loopt uiteen van 0.02 in Hot Lake tot 90 in de Kiatuthlana Red Pond. De meeste Artemia-biotopen waarvoor analysegegevens bekend zijn, behoren echter tot het chloridetype of tot het $\text{Cl}^-(\text{SO}_4^{--})$ -type. In mindere mate kunnen ook SO_4^{--} -zoutmeren aangetroffen worden. Zuivere carbonaat-zoutmeren komen echter niet voor onder de Artemia-vindplaatsen. Dit is te wijten aan de bredere verspreiding van fossiele zoutlagen van mariene oorsprong en de aanvoer van marien zout via de lucht (Eugster en Hardie, 1978 ; Post, 1980). Bovendien is het zo dat de CO_3^{--} zouten een geringe oplosbaarheid kennen ten opzichte van de beter oplosbare SO_4^{--} en Cl^- zouten (Langbein, 1961). In verschillende Artemia-biotopen is CO_3^{--} echter het dominerende anion (Cook Lake, Mono Lake, Jesse Lake en Soap Lake).

Niet alleen de anionensamenstelling doch ook de relatieve verhouding tussen de kationen kan in ruime mate uiteenlopen. Uit de gegevens van Cole en Brown (1967) blijkt dat de Na^+/K^+ verhouding varieert van ongeveer 1 in Richardson Lake tot 306.9 in Cook Lake. De $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ verhouding schommelt van ± 2 in de zoutplassen rond Dayala en Basra (Al-Uthman, 1971) tot 429 in het Muskiki meer (Hammer, 1978).

Rekening houdend met de enorme verschillen in ionensamenstelling tussen de Artemia-biotopen zou men geneigd zijn voorop te stellen dat het pekelkreeftje een zeer brede tolerantiegraad bezit ten opzichte van de diverse ionencombinaties. Nochtans kunnen wij opmerken dat deze tolerantie toch begrensd lijkt. Boone en Baas-Becking (1931) toonden immers aan dat KCl op zichzelf toxisch is voor Artemia. Deze vaststelling werd bevestigd door Croghan (1958b). Deze auteur noteerde echter dat de aanwezigheid van Na^+ een antagonistische invloed heeft op de K^+ -toxiciteit. Kristensen en Hulscher-Emeis (1972) kwamen tot de vaststelling dat wanneer de K^+ -concentratie 20 % bedroeg van de Na^+ -concentratie, de ontloken Artemia-nauplii binnen een paar dagen afstierven. Niettemin wordt Artemia aangetroffen in diverse zoutmeren



- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1. Mono Lake | 14. Muskiki Lake |
| 2. Big Soda Lake | 15. Richardson Lake |
| 3. Owens Lake | 16. La Sal del Rey |
| 4. Abert Lake | 17. Chott Ouarglia |
| 5. Kiatuthlana Green Pond | 18. Zuni salt Lake |
| 6. Kiatuthlana Red Pond | 19. Great Salt Lake |
| 7. Little Manitou | 20. Lake Urmia |
| 8. Hot Lake | 21. Schor Gol |
| 9. Jesse Lake | 22. Dayala |
| 10. Cook Lake | 23. Basra |
| 11. Chaplin Lake | 24. Mahmoodia |
| 12. Whiteshore Lake | 25. Soap Lake |
| 13. Aroma Lake | 26. Solar Lake |

Fig.14. De anionische samenstelling van diverse *Artemia*-biotopen

in Nebraska met een K^+ -concentratie die ver uitstijgt boven de lethale grens vastgelegd door Croghan (1958b), (Mc Carraher, 1970). Analooq komt Artemia voor in biotopen met een Mg^{++} -gehalte hoger dan 0.3 molair (Muskiki Lake, Little Manitou en Hot Lake, Anderson 1958b ; Hammer, 1978), dit ondanks de vaststelling van Boone en Baas Becking (1931) dat het pekelkreeftje verdwijnt bij deze concentratie. Tenslotte waren diverse auteurs de mening toegedaan dat Artemia geen hoge concentraties aan carbonaten of bicarbonaten verdraagt (Croghan, 1958b ; Baid 1958 ; Löffler, 1961), terwijl uit Fig. 14 gebleken is dat Artemia kan aangetroffen worden in zoutmeren waarbij het carbonaatgehalte meer dan 30 % uitmaakt van de totale hoeveelheid anionen.

Deze schijnbare kontradikties vinden wellicht hun oorzaak in de intrinsieke verschillen tussen de diverse Artemia-populaties die de zoutmeren bevolken. Deze verschillen zijn op hun beurt een gevolg van de fysiologische adaptatie van de Artemia-populaties aan de specifieke ionenverhoudingen van de extreme biotopen waarin zij leven. Bowen toonde in 1964 immers aan dat Mono Lake-Artemia niet in leven blijft in gekoncentreerd zeewater, terwijl het water van Mono Lake lethaal is voor de Artemia-populatie uit Great Salt Lake. Ook San Francisco Bay-Artemia sterft af in Mono Lake-water (Mason, 1967 ; Clark en Bowen, 1976 ; Lal Mohan, 1980). Collins (1980) rapporteerde tenslotte dat de carbonaatrijke wateren van Nebraska en Mono Lake toxisch zijn voor alle chloride- en sulfaatrassen.

4.2.3. De pH

Bij de evaporatie van zeewater gaat de verhouding tussen de ionen geringe wijzigingen ondergaan (Nixon, 1969). Dit heeft tot gevolg dat ook de pH zal veranderen. Aanvankelijk treedt een stijging van de pH op tot 9.4 à 9.6 door een saturatie aan $CaCO_3$; bij verdere evaporatie gaat dit zout echter precipiteren, wat resulteert in een pH-daling tot een waarde begrepen tussen 8.0 en 8.2 (Carpelan, 1957). In zoutmeren en in operationele zoutpannen vindt er dus, gezien de opeenvolgende evaporatiecyclussen waaraan ze blootgesteld zijn, een seizoenale fluktuatie van de pH plaats. Daarnaast kunnen zich ook nog diurnale schommelingen voordoen bij intense algengroei. Deze zijn echter relatief gering (Carpelan, 1957). De Artemia-biotopen zijn meestal licht alkalisch. In de carbonaatrijke zoutmeren worden echter hoge pH-waarden genoteerd. Dit is het geval in Mono Lake (pH = 10) (Lenz, 1980) en in de carbonaatrijke zoutmeren van Nebraska (pH = 10-10.6) (Mc Carraher, 1970). De mogelijke rol die de pH zou spelen bij de ontwikkeling van de natuurlijke Artemia populaties werd tot nog toe niet bestudeerd.

4.2.4. De temperatuur

Bij de studie van de verspreiding der Artemia-biotopen in functie van het klimaat is gebleken dat het pekelkreeftje zowel in boreale streken als in tropische gebieden kan aangetroffen worden. Dit vindt dan ook zijn weerspiegeling in sterk uiteenlopende temperatuurregimes in de Artemia-biotopen zelf. Diverse zoutmeren in Saskatchewan (Hammer en Haynes, 1978), Washington (Anderson 1958a,b) en Arizona (Cole en Whiteside 1965b) zijn 's winters dichtgevroren. In de zoutpannen van Bonaire en Curaçao (Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972) en Tuticorin (Ramamoorthi en Thangaraj, 1980) daarentegen daalt de temperatuur nooit beneden de 26°C.

Meer uitgesproken nog dan de verschillen tussen de diverse Artemia-zoutmeren zijn de seizoenale temperatuurschommelingen binnen sommige zoutmeren. Vooral de ondiepe meren en zoutpannen zijn aan grote schommelingen onderhevig. De volgende extremen konden genoteerd worden : Great Salt Lake 0-40°C (Stephens en Gillespie, 1972), Zuni Salt Lake 0-30°C (Bradbury, 1971), Mono Lake 2-22°C (Lenz, 1980), Chaplin Lake 0-29.5°C (Hammer en Haynes, 1978). Deze temperatuurschommelingen worden nog geaccentueerd door het feit dat in vergelijking tot zoetwateroppervlakken, zoutmeren onder eenzelfde instraling van de zon een hogere temperatuur aannemen (Harbeck, 1955). Dit heeft tevens tot gevolg dat in perioden met intense zonneinstraling de temperatuur in zoutmeren hoger oploopt dan de luchttemperatuur en dat de diurnale temperatuurschommelingen in zoutpannen meer uitgesproken zijn dan in zoetwaterbiotopen (Carpelan, 1957).

In meromiktische zoutmeren treedt gedurende een groot gedeelte van het jaar een temperatuurstratifikatie op waarbij in het monimolimnion waarden van 40° tot 50°C kunnen bereikt worden (Anderson, 1958a, Por 1968).

Terwijl de distributie van Artemia over de verschillende continenten niet zozeer door de temperatuur doch vooral door de saliniteit gecontroleerd wordt, speelt de temperatuur een belangrijke rol bij de ontwikkeling van Artemia in de natuurlijke biotopen. In de winter, bij lage temperaturen is de Artemia-populatie sterk gereduceerd, zoals in San Francisco Bay (Carpelan, 1953), Zuni Salt Lake (Bradbury, 1971) en Mono Lake (Lenz, 1980) ofwel volledig geëlimineerd zoals in Great Salt Lake waar alle pekelkreeftjes afsterven zodra de temperatuur onder de 6°C daalt (Stephens en Gillespie, 1976). In de Camalti Saltern te Izmir kon Artemia zelfs niet meer waargenomen worden als de temperatuur onder 15°C daalde (Ucal, 1969.).

De eerste nauplii komen te voorschijn bij een temperatuur van 10-14°C in Great Salt Lake (Stephens en Gillespie, 1972, 1976), 10-13°C in Penley Lake (Brosch, 1969) en minder dan 9°C in Mono Lake (Lenz, 1980). Na de winter gaat de Artemia-populatie opnieuw toenemen. De ontwikkelings-snelheid blijkt echter ook temperatuur-afhankelijk te zijn. In Mono Lake duurt de ontwikkeling van de eerste generatie nauplii tot het adulte stadium 70 dagen bij een temperatuur die stijgt van 8°C tot 18°C (Lenz, 1980). Het voedsel is hier niet limiterend. In de zoutpannen van San Francisco Bay, bij een temperatuur van 20°C is de generatietijd beperkt tot 4 weken (Carpelan, 1953). In de Nederlandse Antillen, bij ongeveer 30°C hebben de nauplii reeds na 1 week het adulte stadium bereikt (Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972).

Een te hoge temperatuur kan echter de ontwikkeling van Artemia negatief beïnvloeden of zelfs beletten. Dit is ondermeer het geval in de ondiepe zoutplassen van Irak (Al Uthman, 1971). Scelzo en Volgar (1980) noteren grote mortaliteiten wanneer een temperatuur van 30°C bereikt wordt. Kristensen en Hulscher-Emeis (1972) vermelden dat Artemia in de zoutmeren van de Nederlandse Antillen niet aangetroffen wordt als de watertemperatuur meer dan 35°C bedraagt. De hoogste temperaturen waarbij Artemia in de natuur ooit waargenomen werd na een zekere adaptatie bedroeg 40°C (Vos en Tansutapanit, 1979).

4.2.5. Het zuurstofgehalte

Slechts weinig gegevens zijn bekend omtrent het gehalte aan opgeloste zuurstof in zoutmeren. Dit is wellicht voor een deel te wijten aan de ontoereikendheid van de klassieke meetmethoden bij hoge saliniteiten (Anderson, 1958 ; Walker 1970). Algemeen kan echter gesteld worden dat, gezien het hoge zoutgehalte van de Artemia-biotopen, het gehalte aan opgeloste zuurstof steeds relatief laag is. In de noordelijke arm van Great Salt Lake werd een waarde van 0.7 mg/l genoteerd (Post 1977b); in de Cabo Rojo varieerde het O₂-gehalte van 0,5 tot 2 mg/l (Walker, 1962) en in het zoutmeer van Boca Chica van 1,4 tot 3,2 mg/l. (Scelzo en Voglar, 1980). Enkel bij intense algenbloei kan het zuurstofgehalte overdag de saturatiewaarde overschrijden. In dit geval is de diurnale variatie zeer groot (Nixon, 1970). In de zoutpannen van San Francisco Bay noteerde Carpelan (1957) een diurnale schommeling van 15 % tot 129 % saturatie.

In verband met de invloed van het zuurstofgehalte op de ontwikkeling van Artemia in zijn natuurlijk biotoop dient opgemerkt dat bij het uittrekken van tijdelijke zoutmeren het gebrek aan zuurstof dat gepaard

gaat met de extreem hoge saliniteitswaarden het massale afsterven van Artemia tot gevolg heeft.

Volgens Versichele en Sorgeloos (1980) tenslotte zouden O_2 -schommelingen, waarbij het zuurstofgehalte tijdelijk kritisch wordt een sterke rol spelen bij de inductie van cystenproductie.

4.2.6. De flora en fauna

Er bestaat een inverse korrelatie tussen het zoutgehalte en de species-diversiteit in aquatische biotopen (Moore, 1952 ; Nixon, 1969 ; Williams, 1972 ; Hammer et al, 1975). Een algemeen kenmerk van de zoutmeren met een saliniteit van meer dan 80 ‰ is de afwezigheid van makrophyten (Williams, 1972). Per definitie kunnen in Artemia-biotopen ook slechts uitzonderlijk vissen aangetroffen worden, terwijl op enkele uitzonderingen na (zie Hoofdstuk 2.1.) het voorkomen van predaterende insekten ten zeerste beperkt is. Artemia is dan ook in de meeste gevallen vrijwel de enige zoöplanktont in zijn biotoop. Bij de laagste saliniteiten, waarbij Artemia in de natuur voorkomt, kunnen soms nog enkele ciliaten, cladoceren, copepoden en rotiferen aangetroffen worden (Moore, 1952 ; Mason, 1967 ; Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972 ; Davis 1978 ; Walker 1981). Zij hebben echter een minieme kwantitatieve betekenis, zodat zij moeilijk als voedselkonkurrenten voor het pekelkreeftje kunnen beschouwd worden. De enige organismen die resistent zijn aan hoge saliniteiten en te samen met Artemia-zoutmeren kunnen bevolken zijn de larven van Ephydra gracilis (Carpelan, 1957 ; Rooth, 1965 ; Bradbury, 1971 ; Stephens en Gillespie, 1972 ; Hammer et al, 1975 ; Davis, 1978) en de crustacea Parartemia sp. (Geddes, 1976, 1981 ; Marchant en Williams, 1977 ; Mitchel en Geddes, 1977). Voedselkonkurrentie tussen Artemia en deze organismen is echter wellicht tot een minimum beperkt. De Ephydra-larven zijn benthische organismen die zich aan substraten vasthechten (Rooth, 1965 ; Stephens en Gillespie, 1972) terwijl Artemia vrij rondzwemt in de waterkolom. Parartemia is een sediment-feeder (Geddes, 1981) die trouwens slechts sporadisch in enkele artificiële zoutwinningsgebieden in Australië samen met Artemia voorkomt.

Uitgaande van deze vaststellingen kunnen we dan ook volledig instemmen met Kristensen en Hulscher-Emeis (1972) die stellen dat "In most places where Artemia is found no other plankton feeder is present. The only food competition will be among the Artemia themselves".

Uit de gegevens verzameld door Carpelan (1957), Mason (1967), Bradbury (1971), Stephens en Gillespie, (1972, 1976), Post (1977a,b), Davis (1978), Scelzo en Voglar (1980) en Bauld (1981) blijkt dat de volgende genera de voornaamste primaire producenten zijn in Artemia-biotopen.

Bacteria : Chromatium sp

Halobacterium sp.

Thiovulum sp.

Beggiatoa sp.

Cyanophyceae : Anacystis sp.

Coccochloris sp.

Oscillatoria sp.

Schizothrix sp.

Chlorophyceae : Dunaliella sp.

Diatomeae : Nitzschia sp.

Amphora sp.

Vermits het pekelkreeftje een niet-selektieve, continue, fagotrofe "filter feeder" is (Reeve, 1963 a,b, ; Barker-Jürgensen 1966 ; Provasoli en D'Agostino, 1969 ; Provasoli, 1977), kan het zich zowel met partikulair organisch materiaal en bacteriën als met planktonische wieren voeden. Planktonische wieren in het bijzonder Dunaliella sp., vormen in de meeste biotopen echter de belangrijkste voedingskomponent (Stephens en Gillespie, 1976 ; Post 1977b ; Scelzo en Voglar, 1980 ; Geddes, 1981).

De kwantitatieve ontwikkeling van de Artemia-populaties is in grote mate afhankelijk van de primaire produktie, die op haar beurt afhangt van de aanwezigheid van voedingsstoffen in het biotoop (Stephens en Gillespie, 1976 ; Mason, 1967). De meest interessante biotopen, althans voor wat de zoutproduktie betreft, doch via een hoge primaire produktie wellicht ook voor de ontwikkeling van Artemia, zijn deze gelegen in de buurt van bevolkingscentra, riviermondingen, "upwelling areas" en mangrove gebieden (Davis, 1978 ; Sorgeloos, 1979b). In zoutmeren rijk aan voedingsstoffen kunnen de ééncellige wieren (vooral Dunaliella sp.) zich explosief ontwikkelen en een dense monokultuur vormen (Stephens en Gillespie, 1972, 1976 ; Post 1977 a, 1981). De afwezigheid van voedselkonkurrenten en predatoren en de bloei van deze halofiele wieren dragen er dan ook toe bij dat Artemia zich massaal kan ontwikkelen (Moore, 1952 ; Dees, 1961 ; Baker, 1966).

Enkele cijfergegevens over de maximale Artemia-densiteiten bevestigen dit : meer dan 4 000 adulten en 12 000 nauplii m^{-3} of dichtheden variërend van 1 tot 400 individuen per liter in Mono Lake (Mason, 1967 ; Lenz, 1980) ; 10 individuen per liter in Great Salt Lake (Wirick, 1972 ; Stephens en Gillespie, 1976) ; \pm 400 000 adulten m^{-3} in Sivash aan de Zee van Azov (Gun'ko,

1962) ; ongeveer 100 000 cysten m^{-3} in de zoutmeren van Crimea (Voronov, 1973a). Ondanks hun eenvoudige trofische structuur kunnen de Artemia-biotopen dus een hoge produktiviteit vertonen. Carpelan (1957) schat de jaarlijkse produktiviteit van de zoutpannen van San Francisco Bay op 63 kg drooggewicht per ha. De gemiddelde biomassa in de zoutmeren van Burgas en Pomorije bedroeg respectievelijk 0,326 g cysten, 0,053 g larven, 0,927 g juvenielen en 2,745 g adulten per liter (Lüdskanova, 1974).

Hoewel de literatuur in verband met de ekologie der Artemia-biotopen eerder beperkt en bovendien zeer fragmentair is, kon toch waardevolle informatie ingewonnen worden omtrent het natuurlijk habitat van Artemia. Zowel gesloten zoutmeren als de zoutpannen van operationele zoutwinningsgebieden vormen zeer dynamische entiteiten. Seizoenale en "long term" variaties in evaporatie en watertoevoer veroorzaken belangrijke schommelingen in saliniteit en dus onrechtstreeks ook in gehalte van opgeloste zuurstof. Een voortdurende evaporatie resulteert trouwens ook in een verandering van de ionenbalans en van de zuurtegraad. Door het feit dat zoutmeren meestal vrij ondiep zijn en vlugger opwarmen dan zoetwaterbiotopen kent ook de temperatuur een sterk wisselend verloop. Zoals Williams (1981a) duidelijk stelt is het inderdaad zo dat "for most living organisms salt lakes are hostile, physiologically stressing parts of the biosphere".

Dit alles heeft geresulteerd in een geringe species-diversiteit. De weinige soorten die er aangetroffen worden zijn gekenmerkt door een grote flexibiliteit, die voor wat Artemia betreft, gereflekteerd wordt door een grote "gene pool" (zie Hoofdstuk 5). Bovendien heeft Artemia zich fysiologisch zeer efficiënt geadapteerd aan het leven in deze veeleisende biotopen door de ontwikkeling van een zeer doeltreffend respiratorisch en osmoregulatiesysteem (zie Hoofdstuk 2.1). Tenslotte kan het voortbestaan van de populatie doorheen de meest veeleisende omstandigheden verzekerd worden door de produktie van cysten.

De studie van de ekologie der Artemia-biotopen heeft tevens aan het licht gebracht dat elk zoutmeer, elke kustlagune en ieder zoutwinningsgebied in feite een afzonderlijke entiteit is met specifieke fysische, hydrobiologische, chemische en biologische karakteristieken. Daar iedere Artemia-vindplaats een geografisch geïsoleerd biotoop is, kan elke vindplaats in theorie een geografisch Artemia-ras opleveren, dat zich aangepast heeft aan de specifieke kondities die er heersen. In functie van de biotoop-karakteristieken kunnen deze geografische rassen onderlinge verschillen vertonen.

Zoals Collins (1977) opmerkt is het zo dat "the selective forces producing life history differences among populations must be largely a function of differences in temperature patterns, salinity patterns and food availability in the source lakes". Genetische studies hebben aangetoond dat de selectie en adaptatie aan de specifieke kondities in de geïsoleerde biotopen geleid hebben tot minstens 5 "sibling species" die reproductief van elkaar geïsoleerd zijn (voor meer details verwijzen wij naar Hoofdstuk 5). Voor wat betreft het "sibling species" Artemia monica is het reeds duidelijk uit de gegevens van Mason (1967), Clark en Bowen (1976) en Lenz (1980) dat de reproductieve isolatie gebaseerd is op een ekologische barrière, namelijk de ionensamenstelling van het water. Recent werd hiervoor evidentie gebracht door Dana (1981) die succesvolle kruisingen tot stand konden brengen tussen populaties uit carbonaatrijke en chloriderijke biotopen onder specifieke laboratoriumomstandigheden voor wat betreft de ionensamenstelling. In elk geval is het duidelijk dat de specifieke ekologische kondities in de diverse Artemia-biotopen kan leiden tot een aanzienlijke differentiatie tussen de Artemia-populaties. Tenslotte dient de studie van de ecologie der Artemia-biotopen zeker aangemoedigd te worden en dit niet alleen uit louter fundamenteel ekologische overwegingen doch ook om tot een beter begrip (mogelijke verklaring) te komen voor de verschillen tussen de diverse Artemia-populaties.

4.3. De levenscyclus van het pekelkreeftje

De afwezigheid van voedselkonkurrenten en predatoren en de regelmatige bloei van halofiele ééncellige wieren dragen ertoe bij dat Artemia zich in de zoutmeren en zoutpannen massaal kan ontwikkelen. Dit wordt nog in de hand gewerkt door zijn korte generatietijd, hoge reproductiecapaciteit en wisselende aard van reproductie (ovovivipariteit versus ovipariteit).

De cysten die omgeven zijn door een chitineuze schaal drijven, op een paar uitzonderingen na, (zie Hoofdstuk 2.2) op het wateroppervlak en worden onder invloed van de wind en stromingen op de oevers afgezet. Zij blijven in een diapauze-toestand zolang ze droog of onder anaerobe omstandigheden bewaard worden. Dank zij hun schaal of chorion, waarvan de structuur beschreven is door Morris en Afzelius (1967) zijn zij zeer resistent tegen uitwendige factoren (Mathias, 1937 ; Whitaker, 1940 ; Horne 1966 ; Price, 1967).

Eenmaal gehydrateerd in water met voldoende lage saliniteit (voor meer details zie Hoofdstuk 8.4.1.) worden de cysten sferisch en start het metabolisme van het embryo. Na een aantal uren gaat het chorion open-

barsten en puilt het embryo, omgeven door het "hatchingmembraan", naar buiten uit. Gedurende de daaropvolgende uren verlaat het embryo de cyste en enkele uren later wordt het "hatchingmembraan" doorbroken en komt de vrijzwemmende naupliuslarve te voorschijn (Fig. 15). Dit ontluikingsproces en de tijds-spanne tussen de hydratatie en de ontluiking zijn afhankelijk van diverse abiotische parameters zoals de temperatuur, de saliniteit, het zuurstofgehalte en de zuurtegraad (meer details hieromtrent volgen in Hoofdstuk 8.5).

De pas ontloken naupliuslarve wordt door D'Agostino (1965) "stage I₃" en door Hentschel (1968) "Instar I" genoemd. Na een bepaalde tijd gaat de instar I-larve zijn exuvium afwerpen en aldus overgaan tot het "Instar II" stadium (Hentschel, 1968). Vanaf dit stadium is de larve in staat partikels op te nemen en zich te voeden, vermits het spijsverteringskanaal dat nog afgesloten was gedurende het instar I-stadium nu in contact staat met het uitwendig medium (Croghan, 1958a ; Reeve, 1963b).

De eerste twee larvale stadia, samen met het instar III-stadium zijn gekenmerkt door 3 paar aanhangsels : de antennen, de kleine antenullae en de rudimentaire mandibels. De differentiaties die zich bij de eerste vervellingen voordoen en die toelaten de eerste 3 larvale stadia van elkaar te onderscheiden zijn beschreven door D'Agostino (1965) en Hentschel (1968).

Het onderscheid kan onder een mikroscoop bepaald worden. Hierbij is vooral de vorm en beharing van de Gnathobasenseta van belang. Bij instar I-nauplii zijn deze kort en onbehaard. Vanaf het instar II-stadium is er een duidelijke beharing op de langer geworden Gnathobasenseta merkbaar. De instar-III larve verschilt van de vorige twee, door het feit dat de Gnathobasenseta terminaal gespleten zijn (Fig. 16.).

De verder ontwikkeling van Artemia gaat gepaard met de vorming van segmenten en thoracopoden. Vanaf het instar X-stadium grijpen belangrijke morfologische veranderingen plaats : de antennen verliezen hun primitieve bewegingsfunctie en ondergaan seksuele differentiatie. Bij de mannelijke dieren ontwikkelen zij tot haakvormige grijporganen, terwijl ze bij de wijfjes tot kleine sensoriele aanhangsels degenereren (Fig. 17 , 18). Na ongeveer 15 vervellingen (Sorgeloos, 1977) wordt Artemia geslachtsrijp. De adulten zijn ongeveer 1 cm lang. Beide geslachten bezitten 11 paar thoracopoda, ieder samengesteld uit 3 lobben die instaan voor de beweging (endopodieten), de voeding (telopodieten) en de ademhaling (exopodieten). De generatietijd is vooral afhankelijk van de temperatuur en de beschikbare kwantiteit voedsel in het biotoop. Zij kan variëren van 1 week tot meer dan 2 maand. (zie ook Hoofdstuk 4.2.4.).

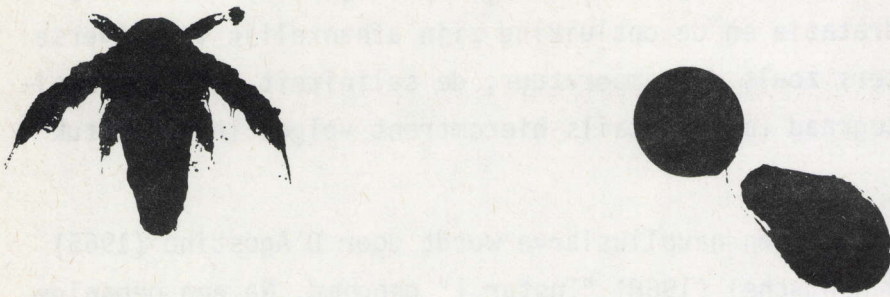


Fig.15. De ontluiking en de vrijzwemmende naupliuslarve

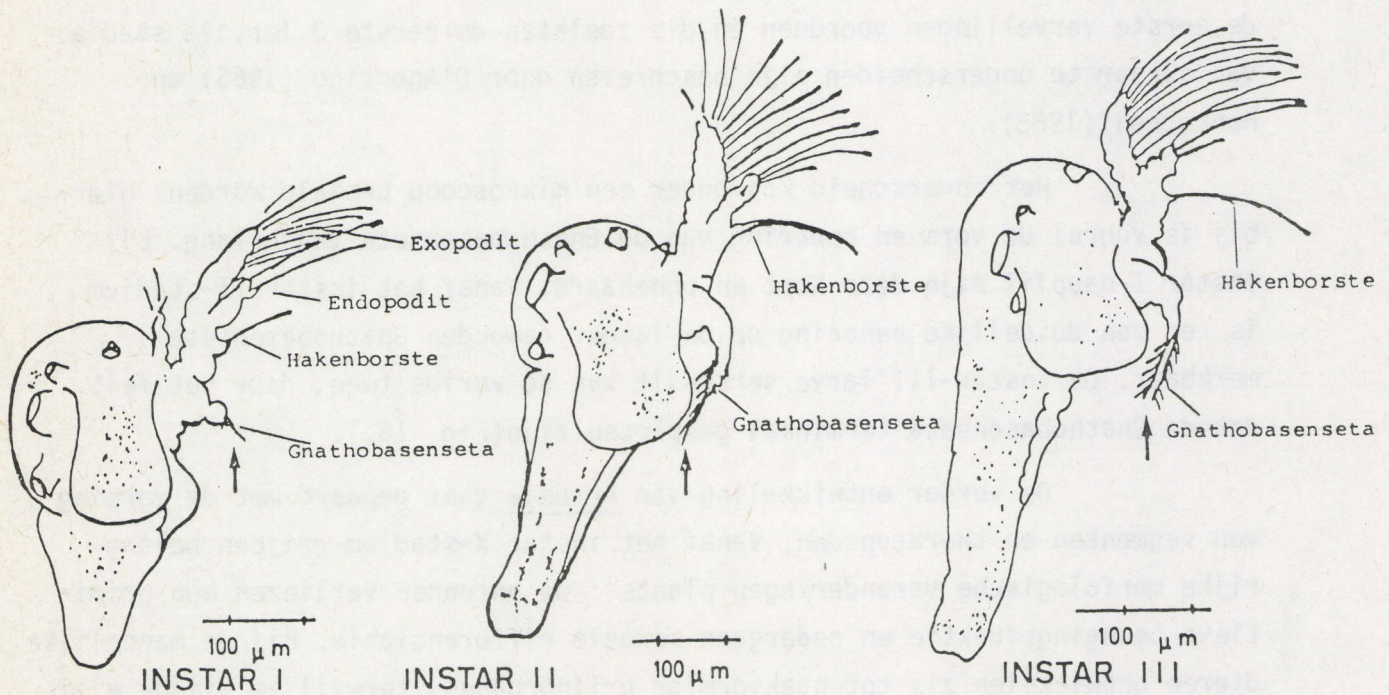


Fig.16. De postembryonale ontwikkelingsstadia van Artemia (naar Hentschel, 1968)

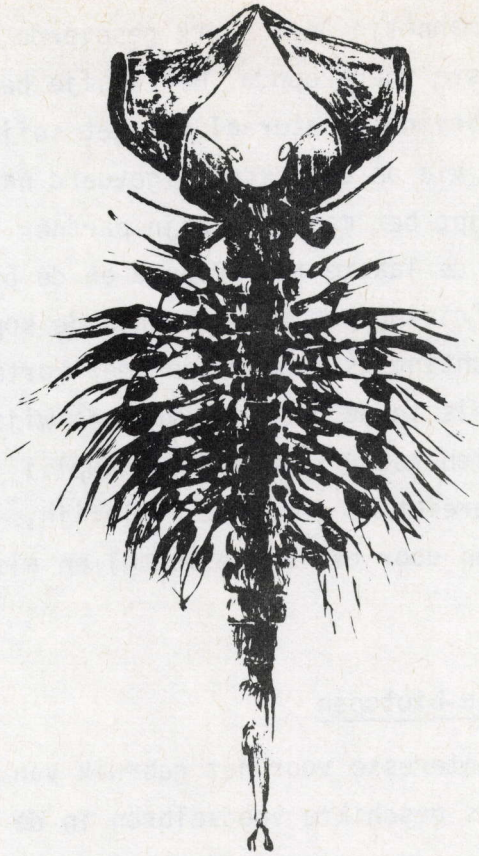


Fig.17. Het adult Artemia-mannetje



Fig.18. Het adult Artemia-wijfje



Fig.19. De kopulatie

Het geslachtsorgaan van het mannetje, een sterk gespierde parige penis, bevindt zich achter de laatste thoracopoda. Het wijfje bezit 2 ovaria die zich in de abdominale streek bevinden lateraal van het spijsverteringskanaal. De rijpe oöcyten worden via de ovidukten afgevoerd naar de uterus. Bij de kopulatie (Fig. 19) grijpt het mannetje zijn partner vast met zijn haakvormige antennes tussen de laatste thoracopoda en de broedzak; in deze zogenoemde prekopulatie of "riding position" kunnen de koppels urenlang rondzwemmen. De eigenlijke bevruchting is echter een zeer korte reflexbeweging, waarbij het mannetje 1 penis in de broedzak van het wijfje brengt. De bevruchte eitjes ontwikkelen zich tot vrijzwemmende nauplii of worden, wanneer het gastrulastadium bereikt is (Fautrez-Firlefijn, 1951; Dutrieu, 1960; Kinne, 1975) omgeven door een dikke schaal en als cysten afgelegd.

4.4. De commerciële exploitatie van Artemia-biotopen

Als gevolg van de stijgende interesse voor het gebruik van cysten en adulten van het pekelkreeftje als geschikte voedselbron in de aquakultuur (zie Hoofdstuk 1) is de laatste jaren meer aandacht besteed aan de exploitatie van de Artemia-biotopen. Vooralsnog worden slechts een klein aantal biotopen commercieel uitgebaat. Hierbij gaat de aandacht vooral naar de cysten. De geëxploiteerde biotopen bevinden zich in Argentinië (Buenos Aires) Australië (Shark Bay), Brazilië (Macau), Canada (Chaplin lake), Colombia (Galera Zamba), Frankrijk (Lavalduc), Spanje (Cadiz), de Verenigde Staten (San Francisco Bay, San Pablo Bay, en Great Salt Lake) en de Volksrepubliek China (Tientsin) (zie Sorgeloos, 1979c, 1983).

In de meeste gevallen drijven de cysten op het wateroppervlak. Onder invloed van de wind gaan ze op de oevers accumuleren. Op de meeste plaatsen waar cysten geoogst worden is de windrichting relatief konstant zodat de cysten zich steeds op dezelfde plaats ophopen (Sorgeloos, 1979b). In Lavalduc is dit echter niet het geval (Richard, pers. meded.), zodat de cysten een hele tijd kunnen rondrijven vooraleer ze aanspoelen. Dit heeft tot gevolg dat, wanneer door regenval een dunne minder zoutrijke laag op de hypersalienewatervlaag tot stand komt, de cysten in deze laag tot ontluiking kunnen komen (Post 1977b). Op dergelijke plaatsen worden op de oevers relatief veel lege cystenschalen aangetroffen.

Een variabele windrichting resulteert bovendien in een verminderde rentabiliteit daar grote oppervlakten moeten bestreken worden om de dunne cystenlagen te oogsten op de oevers.

In de zoutpannen van San Francisco Bay, in Great Salt Lake en in Chaplin Lake worden de cysten nog steeds op de oevers geoogst. Rakowicz (1975) rapporteert echter dat het aangeraden is de cysten zo vlug mogelijk na het aanspoelen te verzamelen. Op die manier kan vermeden worden dat de cysten drogen en door de wind weggeblazen worden, na hydratatie tot ontluiking komen of aan diverse hydratatie-dehydratatiecycli onderhevig zijn. De blootstelling aan deze hydratatie-dehydratatiecycli, bijvoorbeeld door regenval of morgendauw gevolgd door zonneschijn tast immers de energiereserves der embryo's aan zodat ze minder vitaal worden of zelfs niet meer tot ontluiking komen (Rakowicz, 1975). Ten einde de leefbaarheid der embryo's te verzekeren en aldus de ontluikbaarheid te optimaliseren is het dan ook wenselijk de cysten van het wateroppervlak te oogsten (Sorgeloos, 1980b). De accumulatie der cysten op de oever kan voorkomen worden door de constructie van dijken of vlottende barrières (Sorgeloos, 1978). De cysten kunnen dan met een fijnmazig net (100-150 μm) verzameld worden op de plaatsen waar zij door de wind bijeengedreven zijn. Deze oogstmethode in het water wordt thans toegepast in Macau en Barotac Nuevo (Sorgeloos, 1979b), Shark Bay (Manzi, pers. meded.) en Lavalduc (Richard pers. meded.). In deze laatste vindplaats zorgt de wisselende windrichting echter voor moeilijkheden.

De verwerking van het geoogste cystenmateriaal wordt uitgevoerd in 3 konsekutieve stappen : de reiniging, de droging en de verpakking. Op sommige plaatsen worden de verzamelde cysten, meestal vermengd met zand, hout, pluimpjes, of andere onzuiverheden, gedurende een bepaalde tijd gestockeerd vooraleer een aanvang genomen wordt met de reiniging. De cysten van Great Salt Lake worden gedurende 7 tot 10 maand gestockeerd in jutezakken (50 kg) in een droog verlucht lokaal (Rakowicz, 1975). De cysten van Lavalduc worden in een diepvries bewaard bij -20°C (Richard, pers. meded.). Beide bewaringsmethoden blijken de ontluikbaarheid van de cysten te bevorderen. Dit is wellicht te wijten aan een aktivatie van de cysten waarbij de diapauze-toestand opgeheven wordt (voor meer details hieromtrent verwijzen wij naar Hoofdstuk 8.3.2.).

Het basisprincipe van de cystenverwerking steunt op de methode uitgewerkt door Rakowicz (zie ook Dempster 1946 a,b, ; Helfrich, 1973 ; Rakowicz, 1975).

- Het cystenmateriaal wordt gezuiverd door wassen in koud leidingwater en zeven (De lage temperatuur van het spoelwater zorgt ervoor dat het cystenmetabolisme slechts traag evolueert).
- De grootste hoeveelheid water wordt verwijderd door zakken gevuld met cysten uit te knijpen of door centrifugeren.
- De cysten worden in dunne lagen (max. 5 mm) gedroogd op rekken bedekt met fijngeweven katoenen doeken bij een temperatuur van 30°C onder continue ventilatie tot een watergehalte van 7-12 % bekomen wordt.
- Daarop worden de cysten nogmaals gezuiverd van stof, zand en lege cystenschalen in een luchtstroomtoestel ontworpen door Rakowicz en eventueel verder gedroogd tot een watergehalte van 7 %
- Tenslotte worden ze verpakt in metalen dozen onder vacuüm of onder een stikstofatmosfeer.

Er bestaan vanzelfsprekend diverse varianten op deze techniek, doch de cystenverkopers zijn uit commerciële overwegingen erg karig met gegevens over hun preciese verwerkingstechniek. Sorgeloos et al. (1978a) ontwikkelden een techniek om de volle cysten achtereenvolgens van zware en lichte onzuiverheden te separeren. (Fig. 20). Het cystenmateriaal wordt eerst in verzadigde pekkel gebracht. Op halve hoogte wordt de suspensie geëereerd. Alle zware partikels gaan bezinken, terwijl de cysten en lichtere partikels bovendrijven. Het bovendrijvend materiaal wordt verzameld en na spoeling overgebracht in een scheidtrechter voor de helft gevuld met leidingwater. Hierin bezinken de volle cysten en drijven de lege cystenschalen en andere lichte onzuiverheden boven. Deze methode uitgewerkt op laboratoriumschaal wordt thans, mits een paar technische modifikaties, toegepast bij de verwerking van de cysten van Great Salt Lake (Sanders pers. meded.). Na bezinking van de zware onzuiverheden in een container die ongeveer 400 kg cystenmateriaal kan bevatten wordt het materiaal met een niet gespecificeerde stroomsnelheid door een langwerpig recipiënt gevoerd. De lege cystenschalen stromen via de overloop achteraan de container weg, terwijl de volle cysten zich onderaan accumuleren. Een analoog zuiveringssysteem wordt in Chaplin Lake gebruikt (Owens, pers. meded.). In Shark Bay gebeurt de scheiding in continue doorvloeit zoals voorgesteld in Fig. 21 (Manzi pers. meded.). Ook hier ontbreken nadere gegevens omtrent de stroomsnelheid en retentietijden.

Het drogen van de cysten vindt in Thailand en in San Francisco Bay plaats op droogtafels. De cysten van Great Salt Lake worden op een vibrerende zeef gedroogd in een tunnel waar droge lucht doorgeblazen wordt. De cysten van Shark Bay worden met een "fluidized bed dryer" gedroogd. De invloed van de diverse droogtechnieken op de leefbaarheid van de embryo's

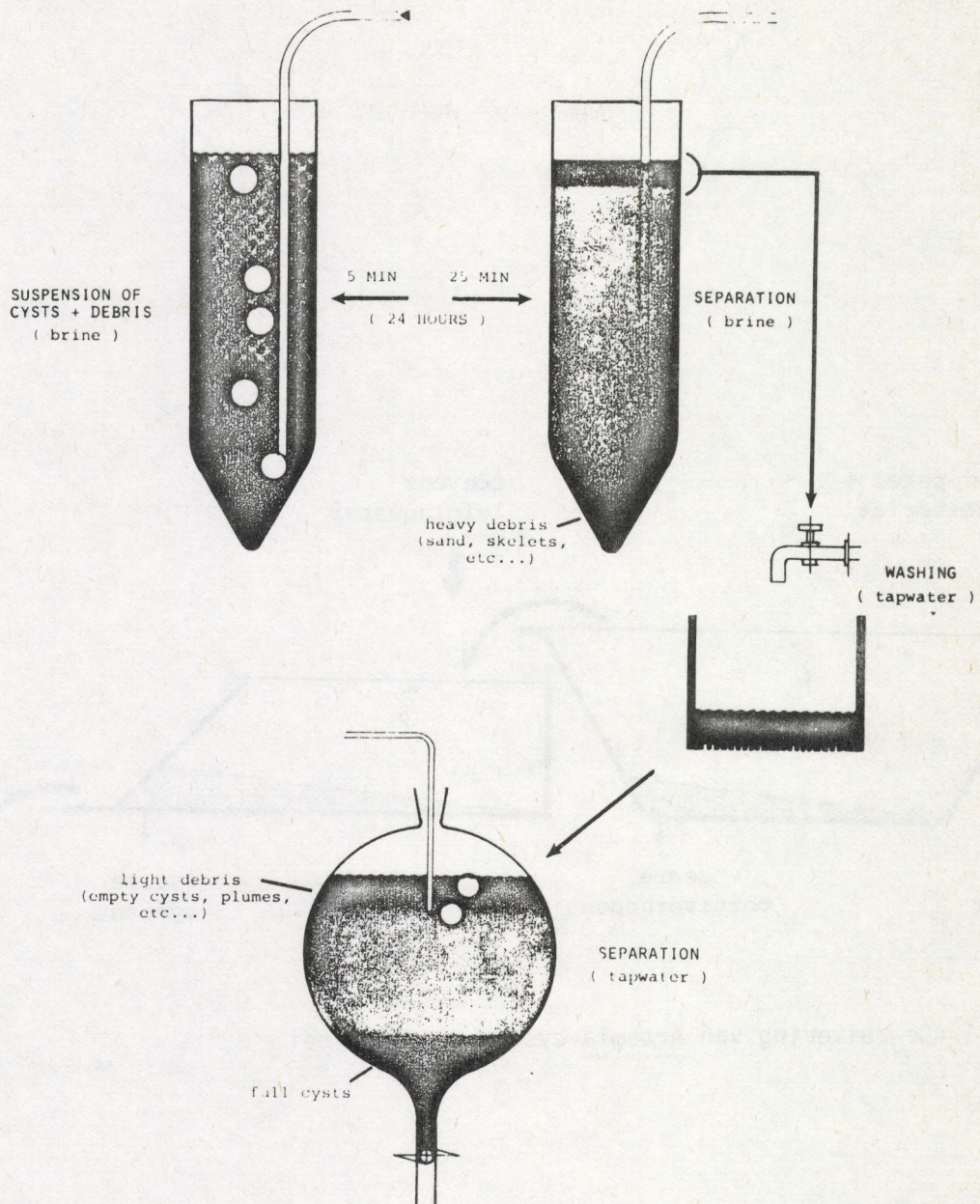


Fig. 20. De techniek voor de zuivering van cysten (naar Sorgeloos et al. 1978a)

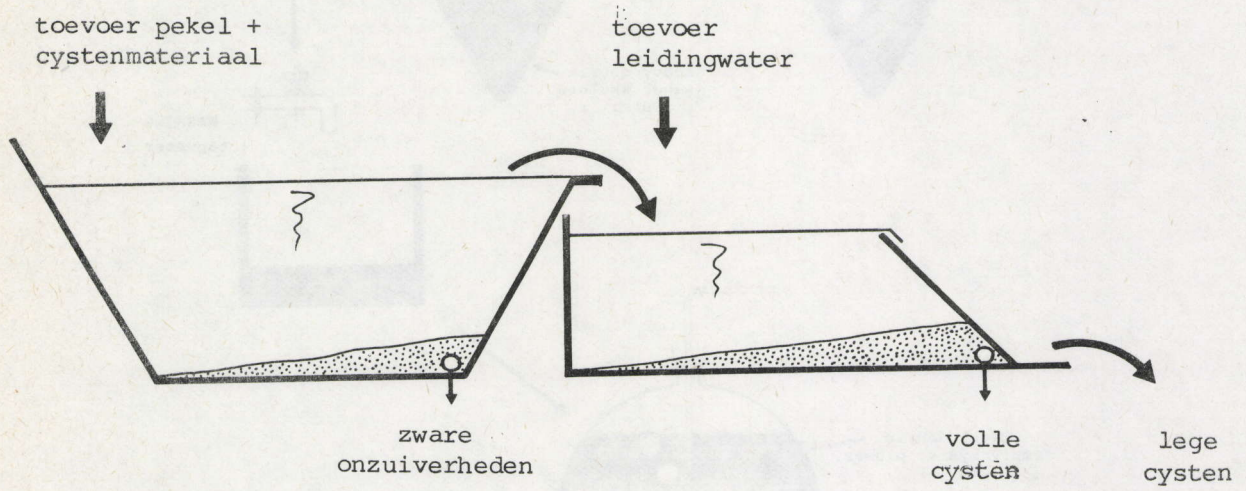


Fig. 21. De zuivering van Artemia-cysten in doorvloei

zal in hoofdstuk 8.3.2. meer in detail besproken worden.

Na de droging worden de cysten van Great Salt Lake gestockeerd in grote vaten (200 kg), in een mengtoestel gemengd en tenslotte vakuum verpakt in metalen dozen. Deze vakuum verpakking wordt in de meeste produktiecentra toegepast. De cysten van Tientsin zijn echter niet vakuum verpakt. Cysten in droge lucht gestockeerd bewaren hun leefbaarheid 3 à 4 jaar, terwijl cysten die onder vakuum of stikstof bewaard worden na 10 jaar nog steeds een maximale ontlukbaarheid vertonen (Rakowicz, 1975).

In Rusland verschilt de verwerkingsmanier der cysten in ruime mate van deze der Westerse landen (Voronov, 1973b). Het ruwe cystenmateriaal wordt er een eerste maal gezuiverd volgens een niet gepreciseerde flotatiemethode onder druk. Vervolgens worden de cysten (met een zuiverheidsgraad van 90 %) onder een continue luchtdoorborreling in een oplossing van zout en glycerine gesuspenderd. De luchtdoorborreling wordt na een bepaalde tijd afgezet en zware onzuiverheden precipiteren, terwijl de cysten (zuiverheidsgraad 98-99%) bovendrijven. Deze cysten worden verzameld en in linnen zakken gedurende 40 dagen gestockeerd bij een temperatuur van 2 à 7°C. Na deze stockeringsperiode zou het ontlukingsrendement maximaal zijn (Voronov, 1973b). De verdere drogings- en verpakkingsmethoden zijn ons niet bekend. Oleynikova (1973) rapporteert echter dat Artemia-cysten, bewaard in een te vochtige atmosfeer hun ontlukbaarheid verliezen door schimmelaantasting.

De evaluatie van de kwaliteit van een verwerkt cystenmonster gebeurt op een zeer eenvoudige wijze. De San Francisco Bay Brand Company maakt een onderscheid tussen lichte en zware cysten op basis van het gewicht van een bepaald volume cysten (Ford, pers. meded.). In feite bevatten de zogenoemd zware cysten intacte embryo's, terwijl de lichte cysten niets anders zijn dan lege cystenschalen. De aangespoelde cysten worden in San Francisco op hun waarde geschat door 2 ml cysten in een maatcilinder gedurende 24 h te hydrateren bij 27°C. De beste kwaliteit cysten voor wat de verhouding volle ten opzichte van lege cysten betreft, levert dan een volume op van 6 ml cysten (Ford, pers. meded.) De kwaliteit van de verwerkte cysten wordt geëvalueerd door 5 g cysten te inkuberen in 1 liter zeewater bij 28°C gedurende 30 tot 36 h. De verzamelde nauplii worden gespoeld en in een gegraduateerde cilinder gebracht waar ze uitzinken. Een goed produkt levert dan 30 ml nauplii op. (San Francisco Bay Brand, 1979).

HOOFDSTUK 5. GENETISCHE KARAKTERISATIE EN SYSTEMATISCHE KLASSIFIKATIE VAN ARTEMIA

De eerste wetenschappelijke vermelding van het bestaan van pekelkreeftjes is van de hand van Schlosser (1756). Zijn beschrijving van Artemia die hij aangetroffen had in zoutpannen nabij Lymington (Zuid-Engeland), was geïllustreerd met een duidelijke tekening (zie Fig. 22).

Linnaeus (1758) beschreef het pekelkreeftje met slechts 20 thoracopoda en klasseerde het onder de naam Cancer salinus. Hoewel Rackett (1812) een tekening bracht "... from own observation..." nam deze auteur de fout van Linnaeus omtrent het aantal aanhangels over. Het is slechts in 1836 dat Audouin deze fout herstelde en wees op de juistheid van de oorspronkelijke beschrijving van Schlosser.

De historische oorsprong van de naam Artemia is niet duidelijk. Kuenen en Baas Becking (1938) publiceerden echter een goed overzichtsartikel omtrent de evolutie van de naamgeving bij Artemia. Uit hun literatuuronderzoek bleek dat de eerste genusnaam, namelijk Artemisia, toegekend werd door Leach (Latreille, 1817). Lamarck (1818) veranderde de naam Artemisia, die reeds ingevoerd was voor een plantengeslacht in Artemisius. Volgens niet gekonfirmeerde literatuurgegevens zou Leach echter reeds vroeger het genus Artemia ingevoerd hebben (Leach, 1819). Intussen werden reeds enkele soortnamen voorgesteld, namelijk Eulimene albida (Latreille, 1817) en Branchipus milhausenii (Fisher, 1834).

Gedurende de eerste helft van de 19de eeuw werden meerdere vindplaatsen van het pekelkreeftje ontdekt. Dit resulteerde in een nog grotere verwarring. Zo bracht Joly (1840) kritiek uit op Schlosser (1756) en verwierp het bestaan van mannetjes bij Artemia. In 1851 toonde Leydig echter aan dat zowel parthenogenetische als bisexuele Artemia-populaties voorkomen. De vaststelling van een aantal morfologische verschillen tussen de diverse geografisch geïsoleerde Artemia-populaties had tot gevolg dat gedurende de 2de helft van de 19de eeuw reeds meer dan 20 nieuwe Artemia-soorten beschreven waren (zie overzichtsartikels van Albonyi, 1915, Kuenen, 1939 en Littlepage en McGinley, 1965). Packard (1883) en Simon (1886) voerden een reductie in van het aantal soortnamen. Daday (1910) tenslotte groepeerde alle Artemia-soorten onder de gemeenschappelijke naam Artemia salina, doch onderscheidde nog 4 variëteiten :

- forma principales, Simon 1886
- forma varietana (= intermedia) Simon 1886
- forma milhausenii, Fisher 1834
- forma köppeniana, Fisher 1834.

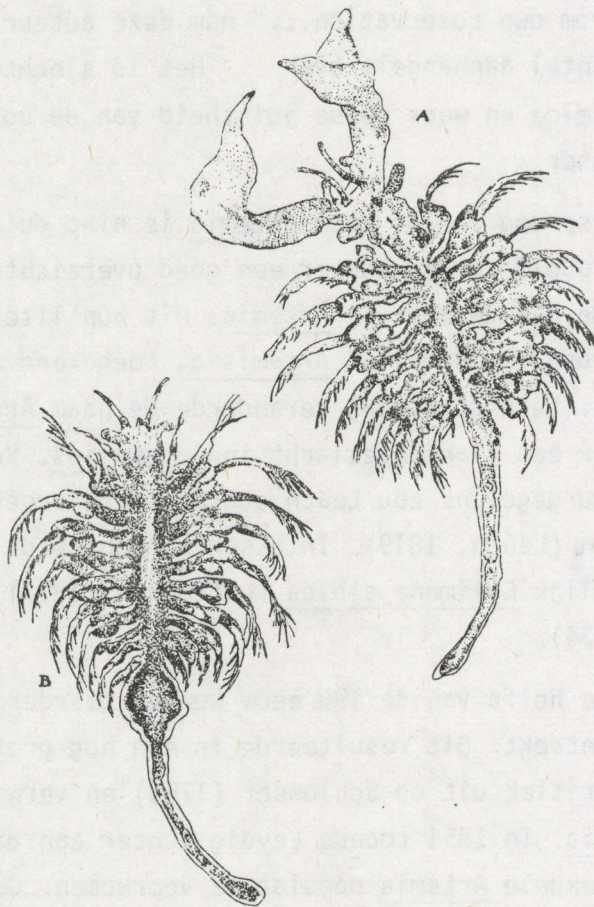


Fig.22. De tekening van Schlosser van een mannelijk (A) en een vrouwelijk (B) pekelkreeftje (uit Kuenen en Baas-Becking, 1938)

Zowel Jensen (1918) als Releya (1937) bleven echter de naam Artemia gracilis Verill behouden voor de populatie aangetroffen in Great Salt Lake. Linder (1941) kwam tenslotte tot de konklusie dat slechts één species kon erkend worden : Artemia salina Linnaeus. Dit besluit werd overgenomen door talrijke auteurs. Barigozzi (1946, 1957), Goldschmidt (1952) en D'Agostino (1965) kenden echter de soort toe aan Leach.

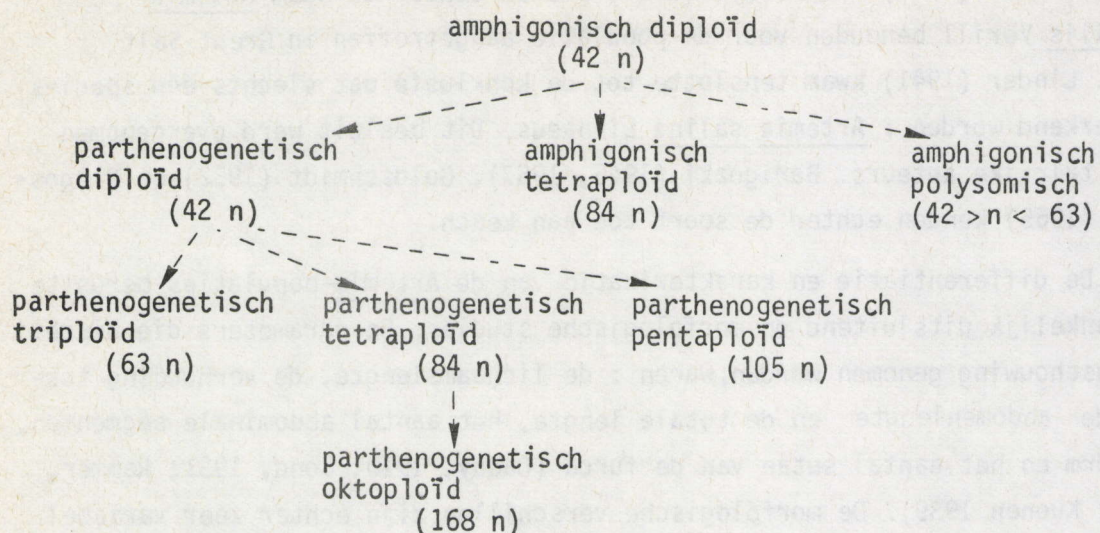
De differentiatie en karakterisatie van de Artemia-populaties berustte aanvankelijk uitsluitend op morfologische studies. De parameters die hierbij in beschouwing genomen werden, waren : de lichaamslengte, de verhouding tussen de abdomenlengte en de totale lengte, het aantal abdominale segmenten, de vorm en het aantal setae van de furca (Daday, 1910; Bond, 1933; Rammer, 1936; Kuenen 1939). De morfologische verschillen zijn echter zeer variabel en zijn funktie van de saliniteit van het medium (Schmankewitsch, 1875; Artom, 1905; Gilchrist, 1956; Barigozzi, 1974) ; om deze reden zijn ze dan ook ongeschikt om de diverse geografische populaties van Artemia te onderscheiden.

Vanaf het begin van de 20e eeuw werd de aandacht toegespitst op het cytologisch onderzoek en de studie van de reproductiewijze der diverse Artemia-populaties. Artom (1906, 1911, 1921, 1923) konkludeerde dat de Artemia-populaties op basis van hun voortplantingswijze kunnen onderverdeeld worden in amfigonische (= bisexuele) en parthenogenetische rassen. In funktie van hun chromosomenaantal was een onderscheid mogelijk tussen diploïde (42 n) en tetraploïde (84 n) rassen. In 1931 ontdekte Artom een parthenogenetisch diploïde vorm in Sète (Frankrijk). De Artemia-populaties werden dan ook ingedeeld in 3 "biotypes" : (Artom, 1931 ; Stella, 1933) :

- amfigonisch en diploïd
- parthenogenetisch en diploïd
- parthenogenetisch en tetraploïd

Het cytologisch onderzoek wees verder uit dat naast diploïde en tetraploïde eveneens triploïde, pentaploïde en oktoploïde vormen voorkwamen (Gross, 1932 ; Barigozzi, 1946, 1974 ; Goldschmidt, 1952). Het voorkomen van oktoploïde en dekaploïde vormen werd echter niet meer bevestigd (Barigozzi, 1957 ; 1974). Gross (1932), Goldschmidt (1952), Barigozzi (pers. meded.) en Abreu-Grobois en Beardmore (1982) stelden bovendien vast dat binnen eenzelfde populatie diverse chromosomenaantallen kunnen aangetroffen worden.

Barigozzi (1946, 1957) probeerde de phylogenetische verwantschap tussen de diverse vormen vast te leggen. De bisexuele diploïde vorm zou de oorspronkelijke vorm zijn geweest waaruit de andere vormen zouden ontstaan zijn volgens volgend schema :



Intussen konden Halfer Cervini et al (1967), Piccinelli en Prosdociami (1968) en Piccinelli et al. (1968) nog een bisexuele vorm met 44 chromosomen onderscheiden in de zoutmeren van Hidalgo (Argentinië) en San Bartholomeo (Sardinië). De populatie van San Bartholomeo bevat echter ook individuen met 42 chromosomen.

Volgens Goldschmidt (1952) zijn de processen van chromosomenvermeerdering en polysomie reversibel waaruit zij besloot dat "... the species is obviously in a state of flux; and it is impossible to tell whether any of the chromosomal strains, will in course of time, become truly distinct from a systematic viewpoint". Dezelfde auteur stelde verder vast dat "... it is a commonplace that a polyploid chromosome complement is likely to offer more resistance to a disturbing genetic influence than the corresponding diploid."

Bij hun onderzoeken naar het effect van radiatie op Artemia stelden Metalli en Ballardin (1972) vast dat tetraploïde en polyploïde Artemia-rassen een grotere buffercapaciteit hebben dan diploïde. Ook Chapman (1968) konkludeerde dat "polyploidy acts as a genetic buffer against lethals" en "... the higher the ploidy the more genes can be carried in the buffered state and the more variability can be evoked by environmental stress". Uitgaande van deze gegevens achten wij het dan ook goed mogelijk dat de polyploïdie voor Artemia een hulpmiddel is om de specifieke extreme kondities in zoutmeren te overleven. Er stapelt zich bovendien steeds meer evidentie op dat Artemia zich ontwikkeld heeft uit een zoetwatervorm. Volgens Stella (1933) benaderen de Eocene Branchipodita de ankestrale lijn van Artemia. Een groot gedeelte der Artemia biotopen zijn "athalassic", d.w.z. dat geen vroegere verbinding met de zee ge-

kend is, en zijn verzilt onder de invloed van het klimaat (Williams, 1981a; Mc Kenzie, 1981). Russler en Mangos (1978) stelden tenslotte vast dat Artemia-larven over de mogelijkheid beschikken de zoutconcentratie in de haemolympe boven deze van het uitwendig medium te houden.

Naast de cytologische studies werd de genetische karakterisatie van de diverse Artemia-rassen uitgebreid door middel van kruisingsproeven. Kuenen (1939) stelde vast dat de geografische rassen van Californië en Cagliari reproductief geïsoleerd waren. Barigozzi en Tosi (1959) konden geen nakomelingen bekomen uit kruisingsproeven van een Californisch ras met de populatie uit Great Salt Lake. Gilchrist (1960) kruiste zonder succes individuen van Californië met de individuen van een Noord-Afrikaans ras. Bowen (1964, 1965) bevestigde de resultaten van Kuenen doch vond kruisingsmogelijkheden tussen diverse Noord-Amerikaanse populaties. Halfer Cervini et al. (1968), Piccinelli en Prosdoscimi (1968) en Piccinelli et al. (1968) kwamen tot de vaststelling dat de populaties van Hidalgo en San Bartholomeo (44n) reproductief geïsoleerd waren ten opzichte van de diploïde populaties van San Francisco Bay en Great Salt Lake die onderling wel vruchtbare nakomelingen produceerden. Daar de morfologische kenmerken van de reproductief geïsoleerde Artemia-rassen weinig houvast boden, konkludeerden Halfer Cervini et al. (1967) en Barigozzi (1972, 1974) dat het genus Artemia in feite bestaat uit een aantal "sibling species" die als volgt kunnen gedefinieerd worden "... morphologically very similar or identical populations between which the reproductive barrier is complete" (Mayr, 1942).

Piccinelli en Prosdoscimi (1968) voerden dan ook naast Artemia salina het species Artemia persimilis in voor de populaties van Hidalgo en de individuen met 44 chromosomen van San Bartholomeo. Daarnaast vermelden zij reeds het bestaan van een derde "sibling species" dat aangetroffen wordt in San Francisco Bay en in Great Salt Lake. Barigozzi (1974) noemde dit species tentatief Artemia franciscana. Clark en Bowen (1976) konden aan de hand van kruisingsproeven 6 verschillende "sibling species" terugvinden die door Bowen et al. (1978) de volgende naamgeving kregen :

- Artemia franciscana Kellog 1960
- Artemia tunisiana Gunther 1900
- Artemia urmiana Gunther 1900
- Artemia monica Verill 1969
- Artemia persimilis Piccinelli en Prosdoscimi 1968
- Artemia parthenogenetica Bowen en Sterling 1978

De 27 geografische rassen die door Bowen et al. (1978) bestudeerd werden zijn in Tabel XIV gerangschikt onder de 6 verschillende "sibling species". Bowen en Sterling (1978) hebben bovendien aangetoond dat 4 van deze "sibling species" kunnen gekarakteriseerd worden door de elektroforesepatronen van de iso-enzymes esterase en NAD dependent malaat dehydrogenase. Uit het onderzoek van Bowen et al. (1969, 1977) is verder gebleken dat elk Artemia-ras 3 tot 4 verschillende haemoglobines bezit (Hb-1, Hb-2, Hb-3 en Hb-X) die kunnen geïnduceerd worden bij een laag gehalte aan opgeloste zuurstof (Heip et al., 1978).

Gezien deze haemoglobines door minimaal 3 structurele genen gekodeerd worden kan de genetische karakterisatie van ieder ras gebeuren op basis van het chromatografiepatroon van deze haemoglobines. Gebruik makend van deze haemoglobine-karakterisatie konden Bowen et al. (1978) aantonen dat 5 van de 7 bestudeerde parthenogenetische rassen van monofyletische oorsprong zijn. Zij konden tevens afleiden dat een zeldzaam mannetje uit een parthenogenetische populatie genen kan transfereren naar een wijfje van een zygotenetisch ras. Deze mogelijkheid werd bevestigd door Abreu-Grobois en Beardmore (1982). Hoewel onder natuurlijke omstandigheden de kans hierop zeer klein is (0.004 ; Stefani, 1964) kan deze vondst belangrijke gevolgen hebben voor het kreëren van nieuwe Artemia-rassen met specifieke kenmerken voor toepassing in de aquakultuur.

Gezien het fundamenteel en toegepast belang van de genetische differentiatie tussen de diverse geografische rassen van Artemia werd ook in het kader van de "International Study on Artemia" genetisch onderzoek der verschillende rassen aangevangen. Voor deze genetische karakterisatie, uitgevoerd op het laboratorium van Prof. Beardmore (Department of Genetics, University College of Swansea, U.K.) werd gebruik gemaakt van gel-elektrophorese van 12 enzymen die door 20 verschillende gen-loci gekodeerd worden (Abreu-Grobois en Beardmore, 1980, 1982). De genetische gelijkheid of afwijking tussen de verschillende Artemia-rassen werd berekend aan de hand van de formules van Nei (1972). Op die manier kon de maat van genetische differentiatie kwantitatief onder de vorm van één parameter uitgedrukt worden. De resultaten van deze studie zijn onder de vorm van een dendrogram voorgesteld in Fig. 23.

Uit dit dendrogram blijkt duidelijk dat de onderzochte Artemia-rassen op basis van hun genetische afstand kunnen onderverdeeld worden in 4 groepen. Deze groepen komen overeen met de "sibling species" zoals opgemaakt door Bowen et al. (1978). Hierbij dient opgemerkt dat het "sibling species" Artemia salina wellicht overeenstemt met het Artemia tunisiana "sibling species" van Bowen et al. (1978). De populatie van Chott Ariana (Tunesië) die door Abreu-Grobois en Beardmore (1982) geklasseerd werd onder Artemia salina werd door Bowen et

Tabel XIV. Indeling van de 27 populaties die door Bōwen en medewerkers onderzocht zijn

Artemia franciscana

Little Manitou Lake en Lake Chaplin (Canada)
San Francisco Bay en Vallejo West Pond (U.S.A.)
Moss Landing (U.S.A.)
San Diego (U.S.A.)
Great Salt Lake (U.S.A.)
Quemado (U.S.A.)
Kiatuthlanna Red en Green Ponds (U.S.A.)
Pichilingue Island (Mexico)
Tallaboa (Puerto Rico)
Greater Inagua Island (Bahama's)
Rockhampton Queensland (Australië)

Artemia tunisiana

San Bartolomeo (Sardinië)
Chott Ariana (Tunisië)

Artemia urmiana

Lake Urmia (Iran)

Artemia monica

Mono Lake (U.S.A.)

Artemia persimilis

Carahue en Hidalgo (Argentinië)

Artemia parthenogenetica

Kutch en Madras (Indië)
Odessa (USSR) en Sète (Frankrijk)
Yamaguchi (Japan)
Rottnest Island en Port Hedland (Australië)

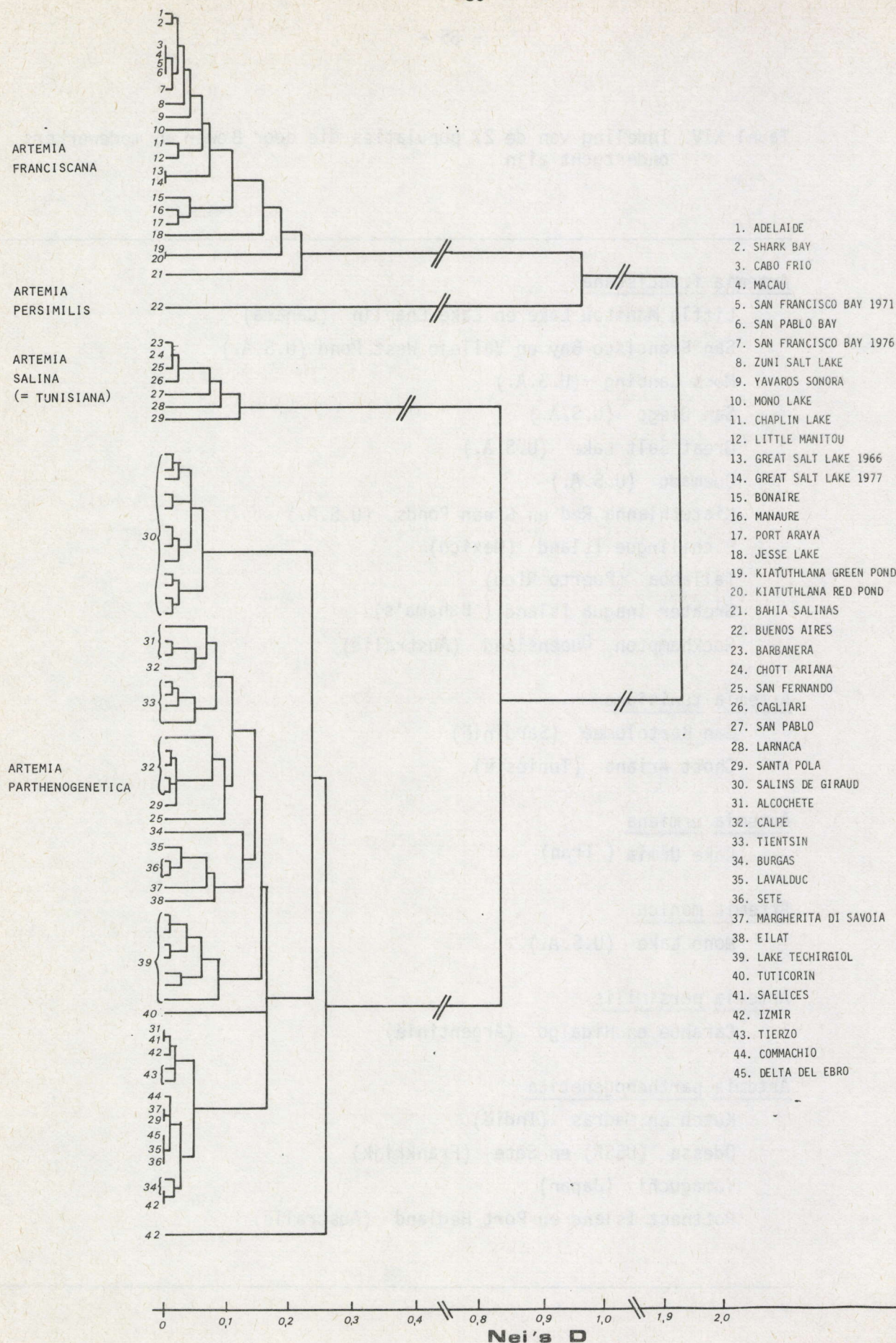


Fig.23. Dendrogram van de genetische afstanden tussen diverse Artemia-rassen (naar Abreu-Grobois en Beardmore, 1982)

al. (1978) immers ondergebracht in het Artemia tunisiana"sibling species". Opvallend is echter dat het ras afkomstig uit het Mono Lake volgens de karakterisatietechniek van Abreu-Grobois en Beardmore kan gerangschikt worden onder het Artemia franciscana"sibling species", terwijl Bowen et al. (1978) op basis van de reproductieve isolatie van dit geografische ras het Artemia monica"sibling species" invoerden. Uit een recente publikatie van Dana (1981) is nu echter gebleken dat een succesvolle kruising tussen individuen van Mono Lake en San Francisco Bay mogelijk is onder specifieke laboratoriumomstandigheden. Dit wijst erop dat de reproductieve isolatie onder natuurlijke omstandigheden uitsluitend het gevolg is van een ekologische barrière tussen deze 2 rassen, namelijk de ionensamenstelling van het water. Uitgaande van dit gegeven en op basis van de genetische identiteit van het Mono Lake ras en de Artemia franciscana-populaties lijkt het afzonderlijke"sibling species"Artemia monica dan ook zijn bestaansredenen verloren te hebben.

Abreu-Grobois en Beardmore (1980, 1982) konden niet alleen tussen de diverse"sibling species"doch ook tussen de verschillende geografische rassen behorend tot eenzelfde"sibling species"een relatief hoge graad van genetische differentiatie vaststellen. De gemiddelde genetische afstand binnen de Artemia franciscana-soort is 0,106 ; binnen de Artemia salina-soort werd een waarde van 0,072 genoteerd. Deze waarden zijn volgens hogervernoemde auteurs vrij hoog voor invertebraten. Zo kunnen binnen het Artemia franciscana"sibling species"reeds diverse afwijkingen genoteerd worden :

- het carbonaatras van Jesse Lake en de rassen van de carbonaatrijke Kiatuthlana Red en Green Ponds zijn reeds in hoge mate gedifferentieerd van de overige Artemia franciscana-rassen die ofwel uit chloride of uit sulfaatrijke biotopen afkomstig zijn ;
- de rassen van Midden-Amerika en Noord-Venezuela (Bonaire, Manaure en Port Araya) vertonen onderling een hoge genetische gelijkheid. Deze rassen liggen alle in het trekgebied van de flamingopopulatie van Midden-Amerika (Rooth, 1965) zodat de transplantatie van Artemia via deze vogels hier waarschijnlijk is ;
- de grote genetische gelijkheid tussen de populaties van San Francisco Bay, Macau(Brazilië) en Port Alma (Australië) kan in verband gebracht worden met het enten van de zoutpannen van Macau en Port Alma met cysten afkomstig van San Francisco Bay.

In de parthenogenetische groep is de inter-genotypische differentiatie nog meer uitgesproken. Binnen deze groep komen immers diploïde, triploïde, tetraploïde en pentaploïde populaties voor. Diverse biotopen bezitten zelfs

een mengsel van diploïde en tetraploïde vormen (Alcochete, Margherita di Savoia, Sète), terwijl andere naast diploïde of triploïde tevens pentaploïde vormen bevatten (Burgas Pomerije, Izmir) (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982). In Santa Pola komen volgens deze auteurs zelfs diploïde bisexuele en parthenogenetische diploïde en tetraploïde vormen samen voor. De inter-genotypische differentiatie tussen de tetraploïde en pentaploïde vormen is relatief gering (0,045). De triploïde populaties zijn echter relatief sterk gedifferentieerd ten opzichte van de overige parthenogenetische vormen. Onderling vertonen ze eveneens een vrij grote genetische afstand. Het voorkomen van een grote verscheidenheid van parthenogenetische vormen wijst er alvast op dat Artemia nog in volle evolutie is. Abreu-Grobois en Beardmore (1982) postuleren dat de ankestrale bisexuele vorm zijn oorsprong vindt in het Middellandse Zeegebied en het Midden Oosten. Op basis van de genetische afstanden zou de evolutie er dan uitgezien hebben als volgt :

- scheiding van de bisexuele vorm van de oude en de nieuwe wereld
- het ontstaan van de parthenogenetische vorm uit de Europese bisexuele vorm
- het ontstaan van Artemia persimilis uit Artemia franciscana

De pentaploïde parthenogenetische vorm zou uit de tetraploïde vorm ontsproten zijn welke op zijn beurt uit de diploïde vorm zou ontstaan zijn. De genetische isolatie van de triploïde parthenogenetische vorm zou er echter op wijzen dat deze vorm onafhankelijk op verschillende plaatsen ontstaan is.

Diverse auteurs hebben reeds gepoogd een korrelatie vast te leggen tussen de diverse vormen of "sibling species" van Artemia en hun geografisch distributiepatroon. Stella (1933) kon geen verband noteren tussen de Artemia "biotypes" en de geografische ligging van hun biotopen. Barigozzi (1946, 1957) kon evenmin de verschillende vormen van Artemia korreleren met specifieke geografische gebieden. Bowen et al. (1978) rapporteerden dat "... a search for geographical patterns and latitudinal lines of alleles also yielded negative results ". Deze laatste auteurs konden evenmin een duidelijk verband vinden tussen de elektromorfen van de verschillende populaties en de saliniteit of de ionensamenstelling van hun vindplaatsen. Een poging de genetische karakteristieken te korreleren met de saliniteit van de Artemia-biotopen lijkt ons trouwens zinloos daar de saliniteitsvariatiën binnen een biotoop veelal groter zijn dan de verschillen tussen de biotopen. Amat Domenech (1979) melde echter dat in het Middellandse Zeegebied de bisexuele Artemia-populaties enkel voorkomen in biotopen gelegen in de nabijheid van de kust.

Uitgaande van de hierboven verzamelde literatuurgegevens hebben wij het verspreidingspatroon van de diverse onderzochte Artemia-rassen nagegaan. De geografische verspreiding van de verschillende "sibling species" is weergegeven in Fig. 24. Uit de kaart valt duidelijk af te leiden dat op wereldniveau beschouwd geen korrelatie kan gelegd worden tussen de voortplantingswijze en het voorkomen van Artemia nabij de kust of in het binnenland. Hoewel Stella (1933) en Amat Domenech (1979) suggereren dat een koud klimaat de polyploidie zou favoriseren, blijkt hier dat noch de breedteligging noch het klimaat een belangrijke invloed uitoefenen op het distributiepatroon van de bisexuele of parthenogenetische populaties. Beide vormen kunnen inderdaad zowel in gematigde als in tropische gebieden voorkomen. Opvallend is echter dat in gans Amerika enkel bisexuele Artemia-populaties voorkomen. In Azië daarentegen is de parthenogenetische vorm dominant. In Europa evenals in Australië komen beide vormen voor. Deze vaststellingen wijzen erop dat er zich in de geografisch geïsoleerde continenten 2 verschillende vormen ontwikkeld hebben die dan in elk kontinent door toedoen van vogels en mens verder verspreid zijn. Zoals reeds aangestipt in hoofdstuk 2.3. is de aanwezigheid van zowel bisexuele als parthenogenetische populaties in Australië toe te schrijven aan menselijke interventie.

Als besluit van dit literatuuroverzicht omtrent de genetische karakterisatie en systematische klassifikatie van Artemia kunnen we alvast stellen dat dankzij de belangrijke voortuitgang die het genetisch onderzoek geboekt heeft, het thans reeds duidelijk is dat het genus Artemia, diverse "sibling species" omvat en dat ook binnen de "sibling species" een belangrijke differentiatie optreedt. Dit betekent dat aanzienlijke biologische, chemische en fysiologische verschillen tussen de diverse geografische Artemia-rassen mogen verwacht worden. De genetische karakterisatie der Artemia-rassen vormt dus de basis voor de verdere vergelijkende studie van de kenmerken van deze rassen voor de selectie van geschikte rassen voor specifieke aquakultuurdoeleinden.

De verwarring met betrekking tot de nomenklatuur en de taxonomische klassifikatie is echter nog verre van opgelost. De benaming Artemia salina kan in feite enkel gebruikt worden voor het origineel materiaal uit Lymington (Engeland). Daar de zoutpannen van Lymington verdwenen zijn en geen materiaal van die plaats bewaard gebleven is, stelden Bowen en Sterling (1978) dan ook voor dat "A. salina be discontinued as a name for populations in existence today". Ook Barigozzi (1980) kleeft deze stelling aan. Ten einde verdere verwarring te voorkomen werd in een

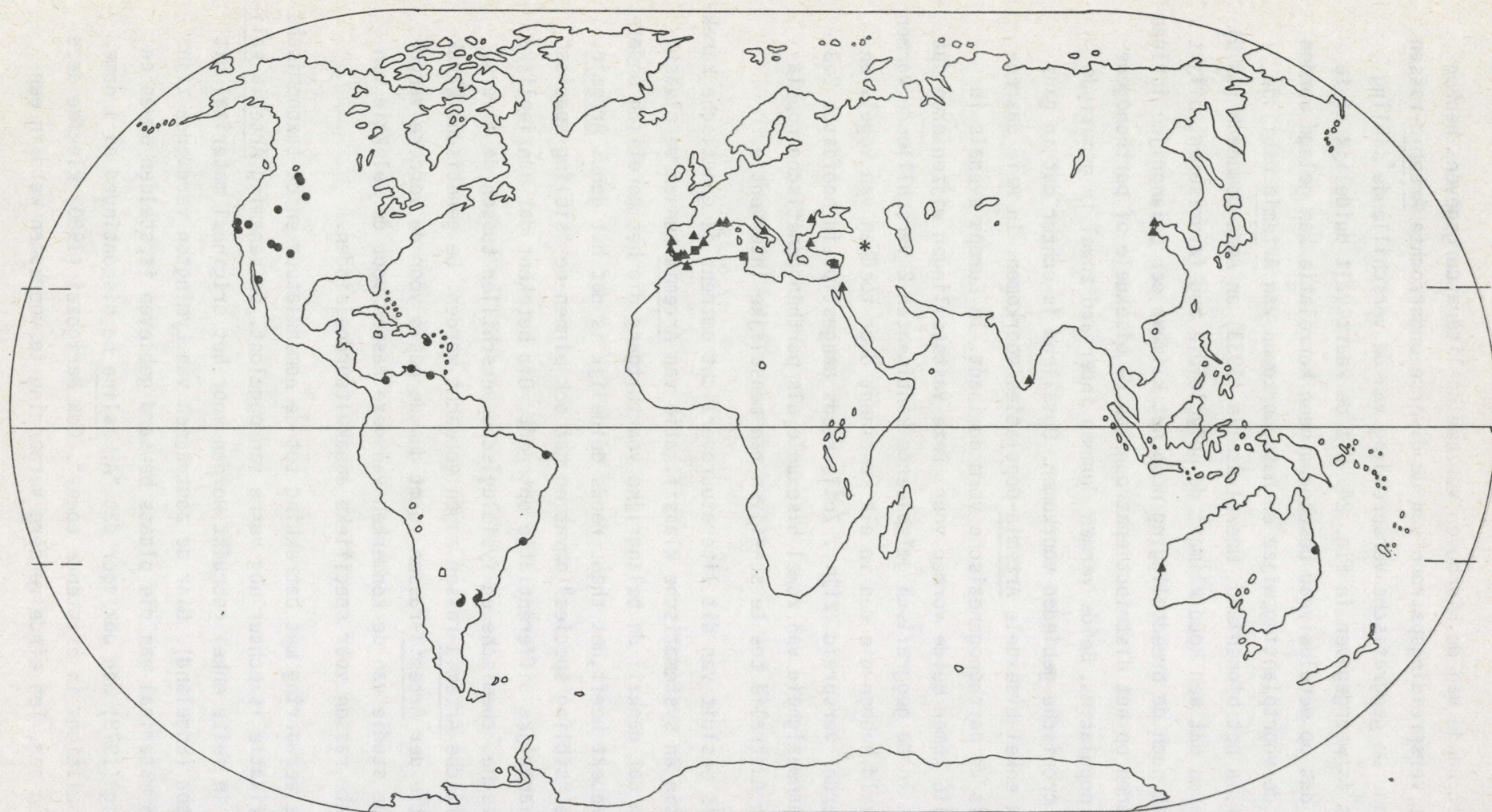


Fig.24. Verdeling van de diverse "sibling species" van Artemia op wereldschaal (● Artemia franciscana ,◐ Artemia persimilis, ■ Artemia tunisiana, * Artemia urmiana, ▲ Artemia parthenogenetica)

editoriale nota in de "Proceedings of the International Symposium on the Brine Shrimp Artemia salina (1980)" dan ook voorgesteld dat "unless the exact sibling species of a bisexual Artemia strain can be identified (cr. Bowen et al., 1978, 1980) and until speciation in Brine Shrimp is more clearly understood, only the genus Artemia should be used".

De vaststelling van Abreu-Grobois en Beardmore (1982), dat de populatie van Mono Lake genetisch sterk gelijkend is aan de Artemia franciscana-populaties brengt echter ook de klassifikatie van Bowen et al. (1978) in het gedrang.

Tenslotte dient nog opgemerkt dat nog geen enkele van de "sibling species" als een afzonderlijke soort opgenomen is door de taxonomische kommissie. Recent werd de aanvraag samen met de betreffende genetische gegevens aan deze kommissie overgemaakt.

HOOFDSTUK 6. MATERIALEN EN ALGEMENE METHODEN

De uitgevoerde experimenten zijn vrij uiteenlopend van aard en in diverse gevallen diende een welbepaalde procedure op punt gesteld te worden ter studie van een specifiek aspekt. Om die reden zullen we ons in dit hoofdstuk beperken tot de beschrijving van de aangewende materialen en de algemene methoden die gedurende het onderzoek van toepassing waren en waarop regelmatig beroep gedaan werd.

6.1. De bestudeerde cystenmonsters van Artemia

De verzameling van het Artemia Reference Center omvat momenteel ruim 80 verschillende geografische rassen. Daarnaast beschikken wij voor verscheidene rassen over verschillende monsters, geoogst op verschillende tijdstippen van het jaar, geoogst gedurende verschillende jaren of gedistribueerd onder een verschillend monsternummer. Een belangrijk probleem dat zich hierbij stelt, is dat in vele gevallen noch het oogsttijdstip, noch de behandelingsmethode van de ons toegestuurde cystenmonsters voldoende gespecificeerd is. Het belang van de juiste vermelding van de geografische afkomst evenals de oogst- en verwerkingsdatum en het monsternummer is nochtans duidelijk naar voor gebracht tijdens de "Workshop" omtrent de "Characterization of Artemia strains for application in aquaculture" ter gelegenheid van "The International Symposium on the brine shrimp, Artemia salina" (Simpson et al., 1980).

De lijst van alle geografische rassen die in de loop van onze studie bestudeerd werden, is samengevat in Tabel XV. Naast de geografische afkomst van de rassen is in de mate van het mogelijke ook het oogsttijdstip (meestal het oogstjaar) en voor de commercieel geëxploiteerde rassen het monsternummer opgegeven. Daarenboven werd de reproductiewijze vermeld evenals de referenties waarop de vermelding van de reproductiewijze steunde.

Tabel XV. Lijst van de bestudeerde cystenmonsters van Artemia

Geografische oorsprong	Oogstjaar (maand)	Monsternummer	Reproductiewijze (Referentie) (B = bisexueel) (P = parthenogenetisch)	Gebruikte afkorting
<u>Afrika</u>				
Tunesië : Chott Ariana	1972		B (1)	
<u>Australië</u>				
Nieuw Zeeland : Lake Grassmere	1980		B (2)	
Queensland : Port Alma	1981		B (1)	
West Australië : Shark Bay *1	1977 •	113	P (B) (3,4)	SB
	*2	114		
	1980			
<u>Amerika</u>				
Argentinië : Buenos Aires *3	1977 •		B (5)	BA
	1979			
Bahama's : Great Inagua	1979		B (1)	
	1981			
Long Island	-		B (14)	
Brazilië : Macau *4	1978 (maart)		B (5)	MAC
	1978 (mei)			
	1978 (oktober)			
	1978	870191		
	1978	87500		
	1978 •	871172		
	1979	971051		
Canada : Chaplin Lake *5	1978		B (5,6)	CHA
	1979 •			
Chili : Pichelimu	-		-	
Colombia : Galera Zamba	1977		B (4)	GZ
Manaure	1977		B (5)	MAN
Dominik. Rep. : Punta Salinas	1978		B (14)	
Ecuador : Pacoa	1981		B (14)	
Mexico : Bahia de Ceuta	1980			
Yavaros	-		B (5)	
Nederlandse Antillen : Bonaire	-		B (5)	
Peru : Chilca	1980		B (14)	
Virrila	1981		B (14)	
Puerto Rico : Bahia Salinas	-		B (14)	BAH
Venezuela : Port Araya	1977 (augustus)		B (5)	PA
	1978 (januari)			
	1978 (mei) •			
Tucacas	1979			
Verenigde Staten : Great Salt Lake *6	1966		B (1,5,7)	GSL
	1968			
	1977 •			
	1978	18		
	1978	185		
	1979			
Jesse Lake	1976		B (4,8)	
Mono Lake	1979		B (1, 9, 10)	
Playa Tahoka	-			
Quemado	-		B (1)	
San Francisco Bay *7		288-2596 •	B (1,5)	SFB
		288-2606		
		2847		
		236-2013		
		65034		
		933235		
San Pablo Bay *8		1628	B (5)	SPB

Tabel XV. Vervolg

Geografische oorsprong	Oogstjaar (maand)	Monsternummer	Reproductiewijze (Referentie) (B= bisexueel) (P= parthenogenetisch)	Gebruikte afkorting
<u>Azië</u>				
Birma	1982		P (14)	
India : Bhayander	1981		P (14)	
Kutch	1978		P (1)	
Mithapur *9	1979		P (14)	
Mundra	1980		-	
Tuticorin	1978		P (4,11)	TUT
Iran : Lake	-		B (1,12)	
Israël : Eilat	-		P (4)	
Filippijnen : Barotac Nuevo * 10	1978		B (14)	BAR
Javelosa	1981		B (14)	
Pangasinan	1979		-	
Sri Lanka : Puttalam	-		P (14)	
Thailand :	1979 (februari)		B (14)	
	(maart)			
	(april)			
	1979 *			
Turkije : Izmir	1977		P (4)	
Volksrepubliek China : Tientsin * 11	1978 *		P (4)	TIE
	1978			
Tsingtao	-			
<u>Europa</u>				
Bulgarije : Burgas	1973		P (4)	
Cyprus : Larnaca	1975		B (5, 12)	
	1980 *			
Frankrijk : Aigues Mortes	-		P (14)	
Lavalduc *12	1979		P (4)	LAV
Etang de Berre	1981		P (14)	
Salin de Giraud	1979		P (4)	
Salins de Hyères	1981		-	
Villeroy	1981		-	
Italië : Margherita di Savoia	1977 *		P (5)	MS
	1978			
Portugal : Alcochete	-		P (13)	
Spanje : Barbanera	1978		B (14)	
(San Fernando)				
Delta del Ebro	1977		P (13)	
San Felix	1976		PB (13)	
San Lucar	1978		PB (13)	
Santa Pola	1977 (april)		PB (13)	
	(juli)			
USSR : Azov Sea	-			
Bolshoe Jarovoe Lake	1979		P (14)	
Kujalnic Lagoon	1979		P (14)	
Mangyshlak peninsula	1977		-	
Odessa	-		P (1,12)	
Sivash	1978		-	
Tinaki Lake	1978		P (14)	

Referenties

- Clark en Bowen (1976), 2. Knight (1974), 3. Geddes (1979), 4. Abreu Grobois en Beardmore (1982), 5. Abreu Grobois en Beardmore (1980), 6. Bowen *et al.* (1978), 7. Barigozzi en Tosi (1959), 8. Bowen *et al.* (1980), 9. Lenz (1980), 10. Dana (1981), 11. Royan *et al.* (1980), 12. Stella (1933), 13. Amat Domenech (1980), 14. eigen vaststelling

* commercieel geëxploiteerde *Artemia*-rassen : 1. World Ocean Ltd (VSA) ; 2. Artemia Inc. (VSA) ; 3. Aquarium products (VSA) ; 4. CIRNE (Brazilië) ; 5. Jungle Laboratories Corporation (VSA) ; 6. Sanders Brine Shrimp Co. (VSA) ; 7. San Francisco Bay Brand Co. (VSA) ; 8. San Francisco Bay Brand Inc. (VSA) ; 9. Ta Ta Chemicals (India) ; 10. Ceramar Agro-Marine Industries (Filippijnen) ; 11. China National Cerials, Oils and Foodstuffs Import and Export Corp. Tientsin Branch, (Volksrepubliek China) ; 12. Compagnie des Salins du Midi et de l'Est (Frankrijk)

* wanneer in het verder betoog voor een bepaald ras geen monsternummer vermeld wordt, dan gaat het om het met dit symbool gekenmerkte monster.

De rassen van Macau, Mundra, Barotac Nuevo, Javelosa en Thailand zijn ontstaan na inokulatie met cystenmateriaal van San Francisco Bay (Sorgeloos et al., 1979 ; De los Santos et al., 1980 ; Vos et al., 1983). Ook de cysten van de laatste 2 monsters van Thailand werden geproduceerd na inokulatie ; ditmaal echter werden Macau-cysten als entmateriaal gebruikt. In Pangasinan werd een menginokulatie uitgevoerd met cysten van Macau, San Francisco Bay en Shark Bay. De cysten van Burma zijn geproduceerd na de introductie van Tientsin-cysten aldaar.

Tenslotte dient vermeld dat nog meerdere monsters van de San Francisco Bay-area, verdeeld door de "San Francisco Bay Brand Company" onderzocht werden, namelijk 1448, 1018, 313-3006, 321-995, 1739, 2018, 3150, 3288, 2149, 1649 en 1840. Deze monsters zijn echter niet in de lijst der bestudeerde rassen opgenomen daar hun exakte geografische oorsprong niet met zekerheid gekend is.

6.2. Het medium : zeewater

Aanvankelijk werden de ontluikingstesten en groeiproeven uitgevoerd in natuurlijk zeewater, afkomstig van de Golf van Biskaye. Dit natuurlijk zeewater had een saliniteit van 35 ± 2 ‰ en een pH schommelend tussen 7,9 en 8,2. Al vlug bleek echter dat de kwaliteit van het op regelmatige tijdstippen aangevoerde water varieerde en dat de kwaliteit eveneens veranderde gedurende de stockeringsperiode van 2 à 3 maand. Om die redenen werd dan ook besloten om een artificieel zeewater te gebruiken met een gekende konstante samenstelling. Vermits het artificieel zeewater van Dietrich en Kalle(1963, in Kinne, 1971) reeds voldoende zijn geschiktheid bewezen heeft voor proefnemingen met Artemia (zie Sorgeloos, 1975) werd voor deze formule geopteerd. Het bufferend vermogen van dit zeewater bleek echter vrij gering te zijn (Mathijs, 1981). Om die reden werd een extra hoeveelheid NaHCO_3 gebruikt bij de bereiding van het artificieel zeewater (zie ook Spotte, 1979).

De toegepaste formule voor de bereiding van het artificieel zeewater is de volgende :

<u>Oplossing A</u>		<u>Oplossing B</u>	
NaCl	239,0 g	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	90,6 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	108,3 g	NaHCO_3	4,0 g
CaCl_2 anhydrisch	11,5 g	NaF	0,003 g
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,04 g	H_3BO_3	0,027 g
KCl	6,82 g		
KBr	0,99 g		

De oplossingen A en B worden afzonderlijk klaargemaakt in gedesioniseerd water. Nadat alle zouten opgelost zijn, wordt de oplossing B onder voortdurend roeren aan A toegevoegd. De aldus bekomen oplossing wordt aangelengd tot een saliniteit van 120 ‰. (De saliniteit werd steeds bepaald met een refraktometer "American optical" met een nauwkeurigheid van 1 ‰). Daarop wordt de oplossing gedurende 24 uur intens geëereerd. Media met een lagere saliniteit worden bereid door verdunning van de stockoplossing met gedesioniseerd water. Na filtratie over kaarsfilters van 1,2 en 0,2 μm is het water met een pH begrepen tussen 7,9 en 8,2 klaar voor gebruik. (De pH werd steeds gemeten met een temperatuur-gekalibreerde Beckman^R pH-meter ; nauwkeurigheid 0,05).

6.3. De inkubatie der cysten en oogst der nauplii

Vermits de ontluiking der cysten beïnvloed wordt door talrijke abiotische factoren zoals de temperatuur, de saliniteit, de pH, het zuurstofgehalte en de lichtintensiteit (zie Hoofdstuk 8), werden de cysten steeds tot ontluiking gebracht onder strikt gestandaardiseerde omstandigheden. Tenzij anders vermeld werden de cysten steeds geïnkubeerd in een cilindrokonische glazen buis (inhoud 100 of 500 ml) gevuld met zeewater (35 ‰). De cysten worden in suspensie gehouden door continue aëratie via een glazen buis die tot juist op de bodem van het ontluikingsrecipïent reikt en via een rubber darmpje voorzien van een injectienaald, verbonden is met een luchtleiding (Fig. 25). Op die manier blijft tevens een voldoende hoog zuurstofgehalte behouden. De ontluikingsbuizen werden opgesteld in een gethermostatiseerde kamer bij $25^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Konstante belichting met een intensiteit van 1000 lux (gemeten met een lux-meter) werd verzekerd door een TL-lamp van 60 Watt op ± 50 cm afstand van de ontluikingsbuizen. De dichtheid van de cysten bedroeg 2 tot 2,5 g per 100 ml inkubatiemedium.

Voor grotere kwantiteiten cysten werd gebruik gemaakt van cilindrokonisch dichtgelaste plasticzakken (Fig. 25). Deze werden onder dezelfde condities opgezet als de glazen buizen. De maximale densiteit der cysten bedroeg hierbij 4 g per liter.

Voor alle groei- en kweekexperimenten werden de nauplii steeds in hun eerste stadium afge oogst. Daartoe werd de aëratie stopgezet. De nauplii die onderaan de buis concentreren, konden eenvoudig met een pipet of glazen buisje opgezogen worden. Wanneer echter een strikte scheiding tussen nauplii en niet ontloken cysten of lege cystenschalen nodig was, werd gebruik gemaakt van een separatorbox (Persoone en Sorgeloos, 1972) waarvan het principe berust op het positief fototactisch gedrag van de nauplii.

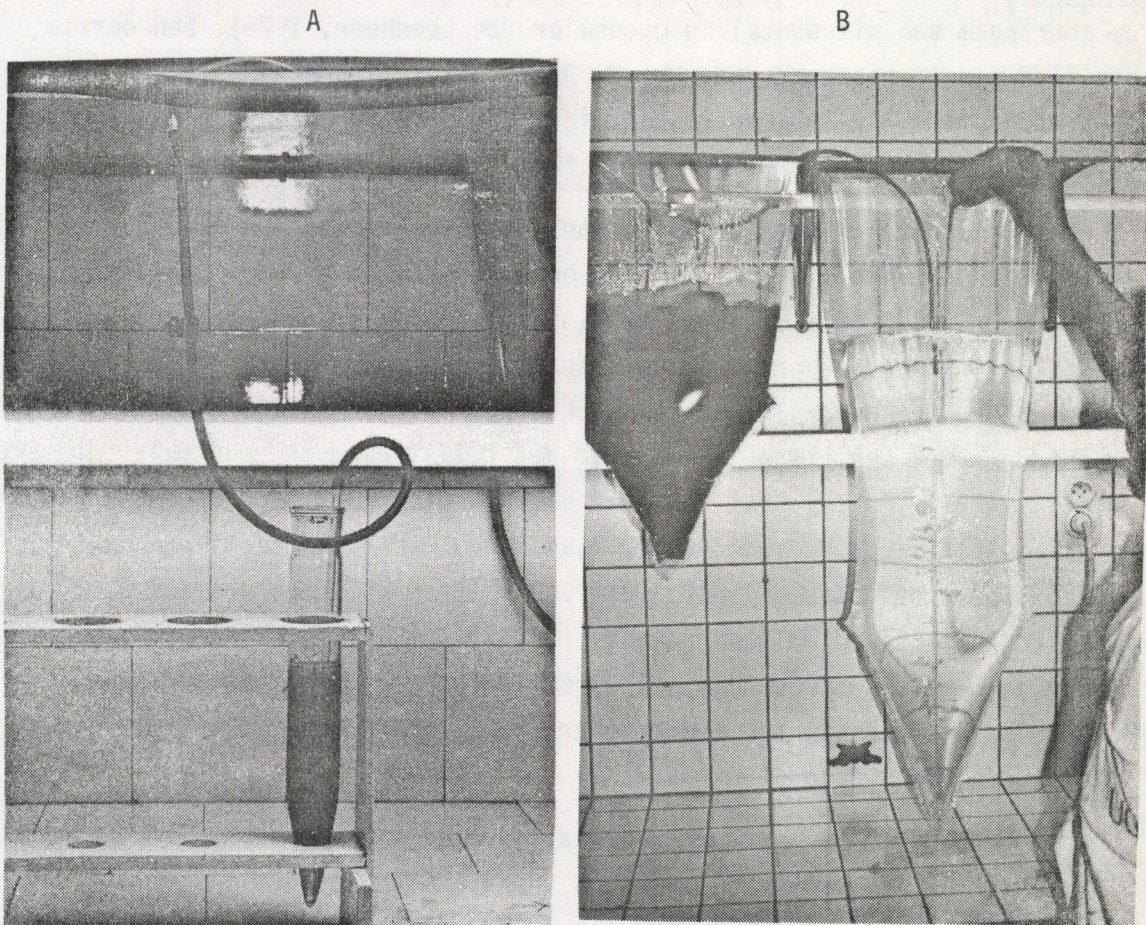


Fig.25. De ontluiking van cysten in een cylindrokoniache glazen buis (A)
en een gelaste plastiekzak (B)

6.4. De kweek van *Dunaliella* en de bereiding van de voedselsuspensie

Voor het merendeel van de fundamentele kweekproeven werd geopteerd voor het groenwier *Dunaliella* sp., een zeer geschikte voedselbron voor *Artemia* (zie Hoofdstuk 10). Aanvankelijk hadden we geen zekerheid omtrent de soortnaam van dit eencellig groenwier (De Leenheer, 1978). Een eerste ent werd ons toegestuurd door Dr. G. Apelt, Biologische Anstalt, Helgoland, Duitsland. In 1981 ontvingen wij van Dr. Uhlig van hetzelfde instituut een ent van de soort *Dunaliella tertiolecta*.

De methodiek voor de kweek van dit halofiele groenwier dat hoge saliniteiten verdraagt (tot 150 ‰) en een goede groei kent tussen 15° en 30°C (Gibor, 1956 ; Stephens en Gillespie, 1976) is gebaseerd op de kweektechniek beschreven in De Pauw en De Leenheer (1979), De Pauw et al. (1979) en De Leenheer (1978). De stockcultuur werd in stand gehouden in Erlenmeyers met een brede hals gevuld met gefiltreerd en geautoklaveerd artificieel zeewater (35 ‰). Het zeewater voor de wierkweek werd opgemaakt door uitgekristalliseerd zeezout van de "Salins du Midi" aan te lengen met gedestilleerd of gedesoniseerd water. Per liter kultuurvloeistof werd 10 ml van het ES medium van Provasoli (1968) en 5 ml gemodificeerd basismedium van Walne (De Leenheer, 1978) toegediend als voedingsbron. De Erlenmeyers werden bij een temperatuur van $22 \pm 3^\circ\text{C}$ opgezet bij een lichtintensiteit van 5000 à 6000 lux.

De eigenlijke wierkweek werd uitgevoerd in cilindrokonisch gelaste plasticzakken met een nuttige inhoud van 2 à 4 l. Het artificieel zeewater werd vooraf hetzij geautoklaveerd bij 121°C gedurende 15 min, hetzij gefiltreerd over kaarsfilters van 1,2 µm en 0,2 µm.

De plasticzakken werden opgehangen in een min of meer gethermostatiseerde ruimte ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) voor een lichtpaneel (6000-8000 lux). Elk kweekrecipiënt werd doorborreld met perslucht. De toegediende voedingsstoffen waren kwantitatief en kwalitatief gelijk aan deze aangewend voor de stockcultuur. Onder de hierboven beschreven condities werd doorgaans, uitgaande van een wierconcentratie van 0,2 à $0,5 \cdot 10^6$ cellen per ml, na 7 dagen een densiteit van 3,5 tot $5 \cdot 10^6$ cellen per ml bereikt.

De wiercellen werden steeds afgeogst in de exponentiële fase van hun groei. Wiercellen afkomstig van een cultuur in de stationaire groeifase kunnen immers toxisch zijn voor diverse invertebraten (Sorgeloos, 1975). Voor het gebruik bij kweekproeven werden de wieren gekoncentreerd.

De celkoncentraties werden bepaald met een Coulter Counter type Dn. Daarop werd de wiersuspensie aangelengd tot een uiteindelijke concentratie van $12 \cdot 10^6$ of $18 \cdot 10^6$ per ml. Deze suspensie werd bewaard in duisternis bij 3-4°C, dit ten einde zowel vermenigvuldiging der wiercellen als bacteriële kontaminatie te minimaliseren. Op die manier kon de suspensie zonder problemen gedurende 7 dagen bewaard worden. Tellingen hebben uitgewezen dat er gedurende deze tijdspanne geen verandering in celkoncentratie optrad en uit voederproeven is gebleken dat de kwaliteit van deze wiersuspensie evenwaardig is aan deze van verse wiercellen.

6.5. De dekapsulatie der cysten

Onder dekapsulatie verstaan wij de chemische verwijdering van het chorion, t.t.z. de buitenste cysteschaal. Dit chorion is opgebouwd uit een alveolaire laag, voorzien van luchtkamers waardoor in de natuur de cysten aan het wateroppervlak drijven, en een kortikale laag geïmpregneerd met haematine, die het embryo beschermt voor UV-beschadiging (Hempel-Zawitkowska, 1967). Het chorion is van het embryo gescheiden door het buitenste kuticulair membraan en een embryonale kuticula (Morris en Afzelius, 1967), (Fig. 26).

De dekapsulatie der cysten is gebaseerd op de oplossing van het lipoproteïne-chorion door het oxiderend effect van de hypochlorietoplossing. Dit effect is het gevolg van de vorming van vrije OCl^- -ionen in een waterig milieu.

Bij de onderdompeling der cysten in een hypochlorietoplossing wordt de haematine, een dekompositieprodukt van haemoglobine dat verantwoordelijk is voor de bruine kleur van de schaal (Dutrieu, 1960 ; Hempel-Zawitkowska, 1967 ; Anderson et al., 1970) opgelost en vervolgens wordt het chorion geoxideerd (Bruggeman et al., 1979). Het dient opgemerkt dat dit chorion slechts volledig kan verwijderd worden wanneer de cysten sferisch zijn.

De toegepaste dekapsulatietechniek is gebaseerd op de methode beschreven in Bruggeman et al. (1979, 1980). De cysten werden gedurende anderhalf uur gehydrateerd in zeewater ($\pm 20^\circ\text{C}$) in een cilindrokonische buis. Daarop werd achtereenvolgens toegevoegd :

- 5 ml NaOH-oplossing (40 %) per 15 g cysten ($\text{pH} \approx 11$)
- 1 g actief NaOCl per 2 g cysten. De aktiviteit van de NaOCl-oplossing werd bepaald uitgaande van de formule $Y = 3000 \times -4003$ waarbij Y = de aktiviteit (g/l) en X = de refraktieve index van de NaOCl-oplossing gemeten met een refraktometer (American Optical).

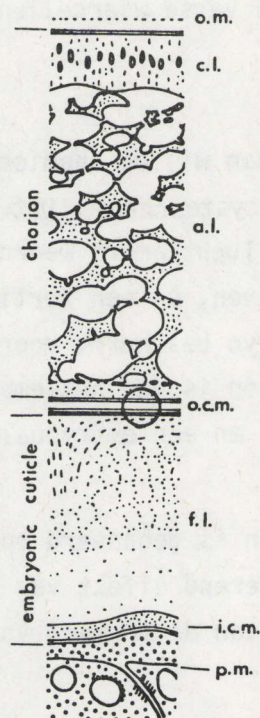


Fig.26. Schematische voorstelling van de cysteschaal (naar Morris en Afzelius, 1967)

Verklaring der afkortingen:

- o.m. = buitenste cellulair membraan
- c.l. = kortikale zone
- a.l. = alveolaire laag
- o.c.m. = buitenste kuticulair membraan
- f.l. = vezelige laag
- i.c.m. = inwendig kuticulair membraan
- p.m. = plasmamembraan

De totale hoeveelheid dekapsulatiemedium (zeewater + NaOCl + NaOH) dient 200 ml te bedragen per 15 g cysten. Het dekapsulatieproces werd gevolgd onder een dissektiemikroskoop. Wanneer het chorion der cysten verwijderd was, werden de ontkapselde cysten op een zeef (maaswijdte 110µm) grondig gespoeld met een 0,1 N HCl-oplossing om de saponifikatielaag die rondom het embryo gevormd is en waarin gechorineerde componenten kunnen geabsorbeerd zijn (Bruggeman et al., 1980) te verwijderen.

Wanneer de te dekapsuleren kwantiteit cysten meer dan 50 g bedroeg, werd het dekapsulatierecipiënt in een bad met gekoeld water gebracht om een te sterke temperatuurstijging ten gevolge van de oxidatiereactie te voorkomen.

6.6. Bepaling van de lengte der Artemia-larven

Voor de lengtemetingen werden de nauplii steeds gefixeerd door toevoeging van een lugol-oplossing (Sorgeloos, 1975). Daartoe werd 1 druppel van de oplossing gevoegd bij 10 ml water. We hebben kunnen vaststellen dat de blootstelling aan hogere concentraties van deze oplossing aanleiding gaf tot het inkrimpen der larven. De inkrimping variëerde bovendien in functie van de concentratie en de tijd van blootstelling. In tegenstelling tot de nauplii werden de opgekweekte larven gefixeerd door overbrenging in een 0,9 % ammoniumformiaatoplossing.

De lengte der pas ontloken nauplii werd gemeten onder een mikroskoop uitgerust met een tekenspiegel. De afstand tussen het proximaal deel van de kop en het terminale deel van het abdomen (Gilchrist, 1960) werd rechtstreeks afgelezen op een doorzichtig meetlatje.

Voor de reeds opgekweekte larven werd gebruik gemaakt van een dissektiemikroskoop voorzien van een tekenspiegel. Hierbij werd de lijn die tussen het vooreinde van de kop en het uiteinde van het abdomen loopt, overgetekend. Met behulp van een kurvimeter werd de relatieve lengte van de larven bepaald.

Zowel voor de pas ontloken nauplii als voor de opgekweekte dieren werd de exakte vergrotingsfaktor bepaald door middel van een gegradueerd mikrometerplaatje (2 mm onderverdeeld in 200 eenheden). De lengte der larven kon dan berekend worden volgens de formule :

$$\frac{\text{lengte getekende larve}}{\text{lengte geprojecteerde standaardlijn}} \times \text{werkelijke lengte standaardlijn}$$

6.7. Bepaling van het drooggewicht, het asgehalte en de energie-inhoud

Cysten en niet gevoede nauplii

Na de separatie van de cysteschalen werden de nauplii in een cylindrokoniische buis gebracht, voorzien van een milde aëratie. Het aantal nauplii werd geteld in 3 deelmonsters van telkens 250 μ l, genomen met een automatisch mikropipet. Daarop werden de nauplii verdeeld over 6 deelmonsters die elk ongeveer 50 000 larven bevatten in een gekend volume zeewater. Het juiste aantal nauplii in elk van de 6 parallellen werd bepaald door tellingen van telkens 10 deelmonsters van 250 μ l. Vervolgens werden de nauplii 4 maal gedurende 10 à 20 sec gespoeld met gedestilleerd water. Op die manier werden alle externe zouten verwijderd (Dutrieu, 1960 ; Paffenhöfer, 1967 ; Von Hentig, 1971). Daarop werden de nauplii op een getarreed verasbaar filttertje, type Whatman 42 - ashless, gebracht. Daartoe werd gebruik gemaakt van een afzuigfles waarbij de filter op een metalen filter geplaatst werd en het overtollige water door middel van een vakuumpomp weggezogen werd (zie Lavens, 1979). Uit saliniteitsmetingen van het spoelwater bleek dat na deze procedure geen zoutafscheiding plaatsvond, wat de vermelding van Schmidt-Nielsen (1974) bevestigt. In navolging van Reeve (1963c), Lovegrove (1966), Von Hentig (1970) en May (1971b) werden de nauplii gedroogd bij 60°C. Deze relatief lage droogtemperatuur voorkomt het verlies van volatiele vetten (Lovegrove, 1966 ; Paffenhöfer, 1967 ; Crisp, 1971). Uit enkele voorproeven bleek dat het gewicht konstant bleef tussen 12 en 48 h (Lavens, 1979). Om praktische redenen werd besloten een droogtijd van 24 h aan te nemen.

Voor de bepaling van het asgehalte werden de gedroogde filttertjes elk in een getarreed, voorverast porceleinen kroesje gebracht en na een voorverwarming tot 275°C gedurende 4 uur verast in een moffeloven bij 550°C. (Benijts et al., 1976). Een analoge verassingstemperatuur konden we terugvinden bij Paine (1964), Paffenhöfer (1967), Crisp (1971), Cummins en Wuycheck (1971) en Von Hentig (1971). Bij temperaturen hoger dan 600°C gaan immers gewichtsverliezen optreden tengevolge van de ontbinding van carbonaten (CO₂-vorming) en het verlies aan chemisch gebonden water uit silicaten (Crisp, 1971 ; Cummins en Wuycheck, 1971).

De gewichtsanalyses werden steeds, na 30 min afkoeling in een dessikator, uitgevoerd met een mikrobalaans "Sartorius" (nauwkeurigheid 1 μ g). Het individueel drooggewicht en het asgehalte der nauplii werd be-

rekend aan de hand van de formules :

$$DS = \frac{G_2 - G_1}{N} \quad \% \text{ as} = \frac{(G_2' - G_1') - Af}{N} \cdot \frac{100}{DS}$$

waarbij : G_1 : gewicht (in μg) van de voorgedroogde filter
 G_2 : gewicht (in μg) van de filter met nauplii
 N : het aantal nauplii
 G_1' : tarra van het voorverast kroesje
 G_2' : asgewicht van het kroesje + inhoud
 Af : asgewicht van de filter

Op te merken valt dat bij de berekening van het asgehalte een kleine correctie diende ingevoerd te worden voor het asgehalte van zogenoemd asvrije filters. Het gemiddeld asgehalte van deze filters bedroeg 0,11 % (experimenteel bekomen na analyse van 20 filters).

De energetische inhoud van de Artemia-nauplii werd bepaald volgens de semi-mikromethode van Maciolek (1962), genaamd "Wet Oxydation". Dit is een kwantitatieve oxydatie-analyse waarbij aan het monster een gekende hoeveelheid oxidans ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) toegevoegd wordt. Na de reactie bij 100°C in aanwezigheid van een katalysator wordt de overmaat bichromaat terug getitreerd. De hoeveelheid zuurstof die gereageerd heeft voor de volledige oxydatie van het organisch materiaal is hierbij het equivalent verschil tussen de toegediende kwantiteit en de overmaat oxidans. De energie-inhoud (Joule/g droge stof) wordt dan berekend met de formule : $E = OC \times 3,4 \times 4,185$ waarbij : OC : verbruikte hoeveelheid zuurstof voor de volledige oxydatie
 $3,4$: konversiefactor voor de omzetting van de "OC" tot calorieën (Maciolec, 1962)

$4,185$: omzettingsfactor van calorieën tot Joule.

De energiebepaling werd uitgevoerd op 20-30 mg droog gehomogeniseerd materiaal. Daartoe werden de geoogste nauplii na 24 h drogen in een aluminiumschaaltje bij 60°C overgebracht in een kleine mortier en fijngemalen. De monsters werden eventueel gedurende enkele dagen bewaard in een dessikator.

De procedure voor de bepaling van het individueel drooggewicht, het asgehalte en de energie-inhoud van ontschaalde cysten was analoog aan deze voor de niet gevoede nauplii met dit verschil dat de cysten na de dekapsulatie en zuivering rechtstreeks geanalyseerd werden.

Opgekweekte Artemia-larven

Bij het beëindigen van een groeiproef werden de larven (op een zeef met aangepaste maaswijdte) zodanig met leidingswater gespoeld dat faekaliën en exuviae konden verwijderd worden. De larven werden nagespoeld met gedestilleerd water en met een ammoniumformiaat-oplossing (0,9 %), die isotonisch is ten opzichte van zeewater, overgespoeld in een petriplaat. Na de bepaling van het aantal, werden de larven die onder invloed van het ammoniumformiaat grotendeels hun darminhoud geledigd hadden, nogmaals op een zeefje gespoeld met gedestilleerd water. Tenslotte werden ze op een getarreerde filter gebracht (Whatmann GFC) en gedurende 24 h gedroogd bij 60°C. De weging en de berekening van het drooggewicht gebeurde op een identieke manier als bij de niet gevoede nauplii.

6.8. De voorstelling en statistische verwerking der gegevens

Ten einde te voorkomen dat de overzichtelijkheid van de resultaten geschaad wordt door een overmaat aan cijfermateriaal, werden praktisch steeds de gemiddelden van de resultaten weergegeven. Daarbij werd echter de standaarddeviatie opgegeven of de residuele fout van het experiment, zodat op die manier een indruk verkregen wordt omtrent de variabiliteit tussen de parallellen of de variantie van de bestudeerde parameter.

Voor de statistische verwerking der resultaten werd een beroep gedaan op de kursussen Biometrie en Statistiek van Prof. Rotti gedoceerd aan de Faculteit van de Landbouwwetenschappen (RUG). Daarnaast werd ook gebruik gemaakt van de handboeken van Snedecor en Cochran (1967) en Sokal en Rohlf (1969).

De vergelijking van de gemiddelden van 2 reeksen waarnemingen werd uitgevoerd aan de hand van een t-toets. Voor het geval de varianties van de 2 reeksen waarnemingen significant verschillend waren, werd gebruik gemaakt van de toetsingprocedure van Aspin (1949). Voor de statistische analyse van experimenten met meerdere behandelingen, die kunnen ingedeeld worden volgens 1 criterium, en met diverse herhalingen, werd beroep gedaan op de statistische methode der variantie-analyse met 1 faktor (Model I). Deze methode laat toe de totale kwadratensom der afwijkingen te splitsen in componenten die geassocieerd zijn met bepaalde variantie-oorzaken. Deze berekeningstechniek laat eveneens toe de significantie van de effecten van deze variantie-oorzaken te toetsen en de numerieke waarde te bepalen van de effecten. Voor een experiment met p behandelingen en r herhalingen ziet de tabel van variantie-analyse eruit als volgt: (Tabel XVI).

Tabel XVI. Variantie-analyse met 1 faktor

Oorsprong van de variantie	Vrijheids-graden	Kwadratensommen	Gemiddelde kwadraten	E (gemiddelde kwadraten)
Behandelingen	$p - 1$	$SST = \sum_i^p \frac{T_i^2}{r} - \frac{T^2}{n}$	$\frac{SST}{p-1}$	$\sigma^2 + r\theta_T^2$
Fout	$p(r-1)$	$SSE = \sum_i^p \sum_j^r (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2$	$\frac{SSE}{p(r-1)} = s^2$	σ^2
Totaal	$n - 1$	$SSTot = \sum_i^p \sum_j^r (Y_{ij} - \frac{T^2}{n})$		

De nulhypothese $H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots \mu_i \dots = \mu_p$ kan getoetst worden door de verhouding der gemiddelde kwadraten (Fw) bij een bepaalde drempelwaarde te vergelijken met $F_{\alpha ; p-1 ; p(r-1)}$ in de tabellen van Fisher.

$$Fw = \frac{\frac{SST}{p-1}}{\frac{SSE}{p(r-1)}}$$

Verwerping van de nulhypothese $Fw > F_{\alpha ; p-1 ; p(r-1)}$ duidt op significante verschillen tussen de gemiddelden.

Om alle gemiddelden van een experiment twee aan twee te vergelijken werd gebruik gemaakt van de toetsingsprocedure van Duncan voor de meervoudige vergelijking van gemiddelden. Hierbij wordt de standaardfout op het gemiddelde van een behandeling berekend volgens de formule :

$$S_{\bar{y}_i} = \sqrt{\frac{s^2}{r}}$$

De significante spreidingsbreedten $D_2, D_3 \dots D_p$ voor groepen van 2, 3 ... p gemiddelden worden bij een gekozen drempelwaarde 2 opgezocht in de tabellen van Duncan. Deze worden vermenigvuldigd met $s_{\bar{y}i}$. Aldus worden de kleinste significante spreidingsbreedten $R_2, R_3, \dots R_p$ bekomen. Daarop wordt de waargenomen spreidingsbreedte (verschil tussen de grootste en kleinste waarde) van de p geordende gemiddelden vergeleken met R_p . De waargenomen spreidingsbreedte van de 2 groepen van p - 1 geordende gemiddelden wordt vergeleken met R_{p-1} , enz. Wanneer de waargenomen spreidingsbreedten groter zijn dan de overeenkomstige R-waarden zijn de beschouwde gemiddelden significant verschillend bij de gekozen drempelwaarde.

Deze methode kan eveneens toegepast worden wanneer er een ongelijk aantal waarnemingen is per behandeling. In dit geval wordt echter :

$$s_{\bar{y}i} = \sqrt{\frac{1}{2} \left[\frac{s^2}{r_1} + \frac{s^2}{r_2} \right]}$$

en wordt bij de vergelijking van de spreidingsbreedten rekening gehouden met het aantal waarnemingen voor de afzonderlijke behandelingen. Bij de variantie-analyse wordt in dit geval de kwadratensom van de behandelingen gegeven door

$$SST = \sum_i^p \frac{T_i^2}{r_1} - \frac{T^2}{n}$$

In enkele gevallen werd een variantie-analyse (Model II) toegepast waarbij in tegenstelling tot het "Model I" met een vast effect van de behandeling ζ_i , de ζ_i 's normaal en onafhankelijk verdeeld zijn met gemiddelde 0 en variantie σ_T^2 . Aan de hand van dit model, waarbij de kwadratensommen en gemiddelde kwadraten berekend worden zoals opgegeven voor "Model I", kunnen de waarden van de componenten van de variantie σ^2 en σ_T^2 geschat worden. Het gemiddeld kwadraat $\frac{SST}{p-1}$ is een schatting van $\sigma + r\sigma_T^2$ en het gemiddeld kwadraat $\frac{SSE}{p(r-1)}$ is een schatting van σ^2 . De geschatte waarden s^2 en s_T^2 van de componenten van de variantie σ^2 en σ_T^2 kunnen aldus berekend worden door het oplossen van de vergelijkingen $\frac{SST}{p-1} = s^2 + rs_T^2$

$$\frac{SSE}{p(r-1)} = s^2$$

In het geval van ongelijke aantallen herhalingen binnen de behandelingen wordt r gegeven door :

$$r = \frac{1}{p-1} \left(\sum p_i r_i - \frac{\sum p_i^2 r_i^2}{\sum p_i} \right)$$

Uitgaande van de waarden van s^2 en s_T^2 kan dan ook het relatieve aandeel van elk van de variantiecomponenten in de totale variantie bepaald worden.

Vermits het aantal parallellen een grote invloed uitoefent op de gevoeligheid van een test, werd voor de aanvang van een reeks vergelijkende proeven tussen diverse Artemia-rassen het approximatief aantal herhalingen bepaald, noodzakelijk om een gewenste nauwkeurigheid te bekomen. Daartoe werd, uitgaande van de schatting s^2 van de residuele variantie uit preliminaire proeven, het aantal herhalingen (r) bepaald opdat het werkelijk verschil (δ) tussen de gemiddelden een waarschijnlijkheid P zou hebben gedetekteerd te worden bij een drempelwaarde α . De waarde van r die hieraan voldoet wordt verkregen met de formule :

$$r \geq 2 \left(\frac{s}{\delta} \right)^2 (t_1 + t_2)^2$$

waarbij : t_1 = tabelwaarde van $t_{\alpha ; p(r-1)}$

t_2 = tabelwaarde van $t_{2(1-P) ; p(r-1)}$

Voor de bepaling van de lineaire korrelatie tussen 2 veranderlijken X en Y werd de korrelatiecoëfficiënt geschat door de formule :

$$r = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{n}}{\sqrt{\left[\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \right] \cdot \left[\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n} \right]}}$$

met n = aantal waarnemingen

De significantie van de korrelatiecoëfficiënt werd getoetst door

$$t = \frac{r}{\sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}}} \quad \text{te vergelijken met } t_{\alpha ; n - 2}$$

De parameters a en b van de korrelatievergelijking $Y = a + bX$ werden berekend uitgaande van de vergelijkingen :

$$b = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{n}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

Enkele statistische methodes en mathematische formules tenslotte die slechts in een specifiek deel van deze studie aangewend werden, zullen gezien hun éénmalig gebruik daar toegelicht worden.

HOOFDSTUK 7. BIOMETRISCHE EN ENERGETISCHE KENMERKEN VAN CYSTEN EN NAUPLII

7.1. De afmetingen der cysten

Slechts enkele auteurs hebben reeds gegevens gepubliceerd omtrent de afmetingen van Artemia-cysten. D'Agostino (1965) stelde vast dat de cysten van Great Salt Lake significant groter zijn dan San Francisco Bay-cysten. Deze vaststelling werd later bevestigd door Wickins (1972) en Claus et al. (1977). Deze laatste auteurs noteerden bovendien duidelijke verschillen in cystengrootte tussen diverse Artemia-rassen. Ludskanova (1974) verstrekke biometrische gegevens omtrent de cysten van Burgas. Amat Domenech (1980) rapporteerde ten slotte dat de cysten van Spaanse Artemia-rassen grotere afmetingen hebben dan de cysten van San Francisco Bay.

Er is echter nog geen enkele gedetailleerde vergelijkende studie uitgevoerd met betrekking tot de afmetingen van de cysten van diverse geografische oorsprong. Evenmin is het duidelijk of de afmetingen der cysten genetisch vastgelegd zijn of afhankelijk zijn van de abiotische en biotische parameters van het milieu waarin zij geproduceerd worden.

7.1.1. Materiaal en methoden

Daar de meeste cystenmonsters die we ontvangen hebben onzuiverheden bevatten, werden alle te analyseren monsters (1-2 g per monster) gezuiverd volgens de methode beschreven in Sorgeloos et al. (1978a; zie ook Hoofdstuk 4.3.4.). De overblijvende volle cysten werden daarop gedurende 3 uur bij 25°C gehydrateerd in een cilindrokonische buis in 100 ml Coulter Counter^R elektrolyt-oplossing. Deze oplossing werd opgemaakt door natuurlijk zeewater te verdunnen met leidingwater tot een saliniteit van 10 ‰. Aan deze oplossing werd 1 % lugol-oplossing toegevoegd teneinde metabolische activiteit in het embryo te voorkomen, zodat alleen een fysische zwelling kon optreden. Na de hydratatieperiode werd de cystensuspensie na toevoeging van 1 ml lugol-oplossing in een Erlenmeyer gebracht en gestockeerd bij kamertemperatuur in duisternis.

Mikroskopische metingen hebben uitgewezen dat voor 4 ad random gekozen cystenmonsters een maximale zwelling bereikt was na 2 uur hydratatie. De cysten werden echter voor minstens 24 uur in het medium gehouden, daar D'Agostino (1965) heeft vastgesteld dat sommige cystenmonsters uit de VSA meer dan 2 uur nodig hebben om tot een volledige zwelling te komen.

Preliminare metingen hebben aangetoond dat noch de toevoeging van lugol noch de stockeringstemperatuur het finaal volume van de cysten beïnvloeden.

Voor de bepaling van de afmetingen van gedekapsuleerde cysten werden de cysten gedekapsuleerd volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.5. Eventuele lichte onzuiverheden werden verwijderd volgens de flotatiemethode van Sorgeloos et al. (1978a) Het overblijvende cystenmateriaal werd dan geresuspendeerd in pekeloplossing. Na 5 min zijn de zware onzuiverheden bezonken. De intacte embryos werden tenslotte gehydrateerd volgens de hierboven vermelde procedure.

De metingen werden uitgevoerd met een "Coulter Counter ^R" voorzien van een "Channelyzer C-1000" en een "P64 X-Y recorder". Eén uur voor de meting werd de cystensuspensie op een 110 μm zeef gebracht. Na het uitwassen van de lugol-oplossing werden de cysten geresuspendeerd in 50 ml van deze elektrolyt-oplossing.

De Coulter Counter-apparatuur dient als volgt ingesteld te worden :

- diameter buisopening : 560 μm
- 1/"aperture current" : 4
(d.i. de stroomsnelheid tussen de 2 elektroden)
- 1/"amplification" : 16
(d.i. een maat voor de gevoeligheid van de versterker)
- "base channel threshold setting" : 10
(BCT = onderdrempel waarboven de telling geschiedt)
- "window with setting" : 100
(de onderverdeling gebeurt in 100 grootteklassen)
- "count range" : 400
(d.i. het maximaal aantal cysten dat in 1 kanaal kan gebracht worden)
- "count control switch" : "stop at full scale" (dit betekent dat de meting stopt wanneer het maximaal aantal cysten dat in een kanaal kan gebracht worden, bereikt is).

Vermits een variërende druk de metingen beïnvloedt, werd de vakuumdruk konstant gehouden op $20 \cdot 10^3$ Pa. Voor de aanvang van een reeks metingen werd de "Channalyzer" gekalibreerd ten opzichte van de "Coulter Counter" volgens de instructies beschreven in de "Instruction Manual for the Counter Channelyzer C-1000" (Coulter Electronics, 1973).

De gemeten cystenvolumes worden door de "Channelyzer" in kanalen verdeeld. Op die manier bekomt men een frekwentie-distributie (zie Fig. 27). Uitgaande van deze normaal verdeelde frekwentie-distributie en het totaal aantal geanalyseerde cysten (gegeven door de C-1000 integrator) kan het gemiddelde, de variantie en de standaarddeviatie van de distributie berekend

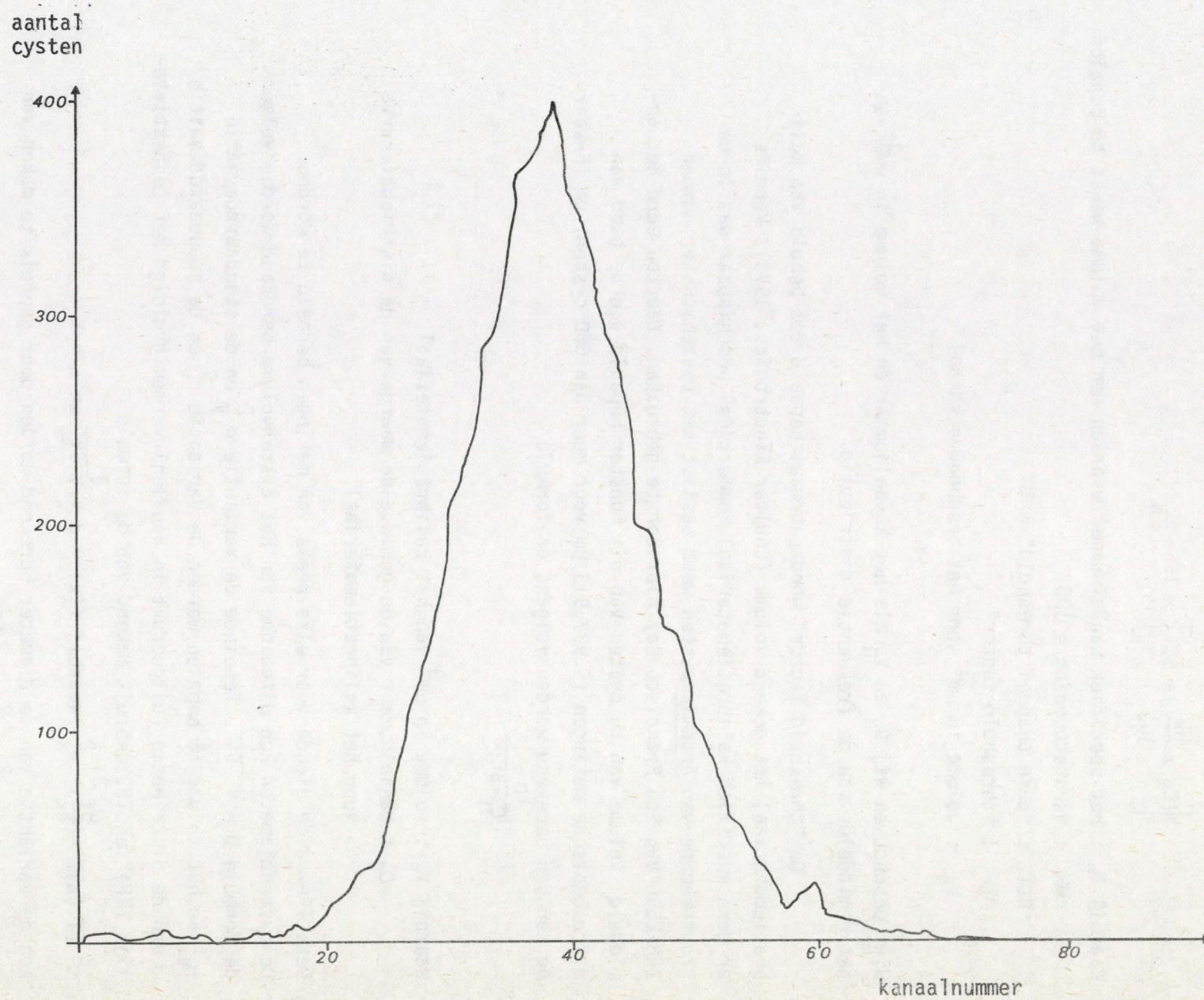


Fig.27. Frekwentie-distributie van Artemia-cysten

worden. Het specifiek individueel cystenvolume per kanaal (V_N) kan bepaald worden aan de hand van de volgende formule (Coulter Electronics, 1973) ;

$$\left[(C_N \times \frac{WW}{100}) + BCT \right] \times TF = V_N$$

Waarbij C_N : het specifiek kanaalnummer waarvan men het volume wenst te bepalen

WW : vensteropening = 100

BCT : "base channel threshold" = 10

TF : "threshold factor"

V_N : volume in μm^3 voor het beschouwde kanaal

Hier beschouwen wij C_N en V_N als het kanaalnummer en het volume in μm^3 van het gemiddelde van de frekwentie-distributie.

De "threshold factor" wordt normaal bepaald met behulp van kalibratiemateriaal met gekend volume (Coulter Electronics, 1973). Vermits er geen specifiek kalibratiemateriaal kommercieel beschikbaar was in de grootte-orde van Artemia-cysten werd beslist het cystenmonster nummer 288-2596 van San Francisco Bay hiervoor te gebruiken. Daartoe werd het gemiddeld volume van de cysten van dit monster bepaald aan de hand van mikroskopische metingen ($5.937.913 \mu m$ voor meer dan 600 cysten) De TF-waarde kon dan berekend worden volgens de formule

$$TF = \frac{V_C}{C_C + BCT}$$

waarbij V_C : volume in μm^3 van het kalibratiemateriaal

C_C : kanaalnummer van de gemiddelde waarde van de distributiekurve voor het kalibratiemateriaal.

Deze TF-waarde diende voor elke reeks van metingen bepaald te worden.

De cystendiameter kon uitgaande van het cystenvolume berekend worden volgens de formule $D = \sqrt[3]{\frac{6V}{\pi}}$. Teneinde de variantie σ_V^2 en de standaarddeviatie σ_V van het volume te bepalen werden de variantie σ_V^2 en de standaarddeviatie σ van de distributie (uitgedrukt in kanalen) vermenigvuldigd met respectievelijk $(TF)^2$ en TF. Gebruik makend van de formule

$$\sigma^2 \{f(x)\} = \left(\frac{df}{dx}\right)^2 \sigma_x^2 \text{ waarbij } f(x) = d = \sqrt[3]{\frac{6V}{\pi}} \text{ en } x = V$$

kon de variantie van de diameter berekend worden door gebruik te maken van de formule $\sigma_d^2 = \sigma_V^2 \left(\frac{2}{9\pi V}\right)^{2/3}$

De statistische vergelijking (t-test) van de gemiddelde volumes en diameters van parallelle metingen van hetzelfde monster wees uit dat significante verschillen konden gedetekteerd worden. Een statistische analyse van

de distributiekurven volgens de methode van de gewogen som van de kwadratische afwijkingen, uitgevoerd op de computer door de dienst van Prof. Steyaert toonde echter aan dat de werkelijke variantie van het gemiddelde ongeveer 10 maal hoger ligt dan de geschatte waarde. Dit blijkt te wijten te zijn aan de relatieve gevoeligheid van de "Channelyzer" die $\pm 1\%$ bedraagt terwijl de berekeningsmethode toelaat verschillen van 0.1% te detecteren tussen de monsters. Om die reden werden aanvankelijk 10 metingen uitgevoerd op elk monster om de gegevens op een statistisch verantwoorde wijze te kunnen vergelijken.

Op die manier werd een gemiddeld kanaalnummer \bar{C}_N met variantie $\sigma_{\bar{C}_N}^2$ bekomen uit de 10 herhalingen van elk monster. De TF-waarde werd ook berekend uitgaande van 5 metingen. Daar deze TF-waarde geen konstante is doch een resultante van het gemiddeld kanaalnummer van 5 herhalingen (\bar{C}_N) dient hierbij rekening gehouden te worden bij de berekening van de varianties.

Het gemiddeld volume van een cystenmonster wordt gegeven door :

$$\bar{V} = (\bar{C}_N + BCT) \times TF$$

of

$$\bar{V} = (\bar{C}_N + BCT) \times \frac{\bar{V}_C}{\bar{C}_C + BCT}$$

Gebruik makend van de vergelijking $\sigma^2\{f(x,y)\} = \sigma_x^2 \left(\frac{df}{dx}\right)^2 + \sigma_y^2 \left(\frac{df}{dy}\right)^2$

met $f(x,y) = V$, $x = \bar{C}_N$ en $y = \bar{C}_C$ krijgen we

$$\sigma_V^2 = \sigma_{\bar{C}_N}^2 \times (TF)^2 + \sigma_{\bar{C}_C}^2 \left[\frac{(\bar{C}_N + BCT) \bar{V}_C}{(\bar{C}_C + BCT)^2} \right]^2$$

De gemiddelde volumes van de diverse cystenmonsters kunnen nu vergeleken worden door middel van een t-test waarbij gebruik gemaakt wordt van \bar{V}, σ_V^2 en het aantal herhalingen. Om de gemiddelde diameters te vergelijken dient het gemiddelde en de variantie van de diameter te worden berekend aan de hand van de vergelijkingen :

$$D = \sqrt[3]{\frac{6V}{\pi}} \text{ en } \sigma_d^2 = \sigma_V^2 \left(\frac{2}{9\pi V^2} \right)^{2/3}$$

Wanneer gegevens beschikbaar zijn voor de niet behandelde cysten en de cysten waarvan het chorion verwijderd werd, kan het volume en de diameter van het chorion bepaald worden. Ten einde het chorionvolume van 2 cystenmonsters te vergelijken kan gebruik gemaakt worden van een u-test.

$$u = \frac{(\bar{V}_1 - \bar{V}'_1) - (\bar{V}_2 - \bar{V}'_2)}{\sqrt{\frac{s^2_{v_1}}{n} + \frac{s^2_{v_1}}{n} + \frac{s^2_{v_2}}{n} + \frac{s^2_{v_2}}{n}}}$$

waarbij \bar{V}_1 en $s^2_{v_1}$ = gemiddelde volume en variantie voor de niet gedekapsuleerde cysten van het 1° monster

\bar{V}'_1 en $s^2_{v_1}$ = gemiddelde volume en variantie voor de gedekapsuleerde cysten van het 1° monster

\bar{V}_2 en $s^2_{v_2}$ = gemiddelde volume en variantie voor de niet gedekapsuleerde cysten van het 2° monster

\bar{V}'_2 en $s^2_{v_2}$ = gemiddelde volume en variantie voor de gedekapsuleerde cysten van het 2° monster

n = aantal waarnemingen

De berekende u-waarde dient vergeleken te worden met de t-waarde voor een ∞ aantal vrijheidsgraden in de tabel van Fisher. Dezelfde formule kan gebruikt worden voor de vergelijking van de choriondiameter van 2 cystenmonsters mits berekening van de gemiddelde diameters en hun varianties.

De hierboven beschreven methode met 10 metingen per monster werd voor diverse geografische rassen en cystenmonsters van eenzelfde ras toegepast. Bij de uitvoering van de statistische analyse bleek echter al vlug dat de gevoeligheid van de methode zeer groot was zodat verschillen van 1 tot 2 μm op een gemiddelde van meer dan 200 μm reeds als zeer significant konden bestempeld worden. Om die reden werd dan ook besloten de verdere metingen slechts in 3-voud uit te voeren. Dit schaadde geenszins de precisie van de resultaten en was minder tijdrovend.

7.1.2. Resultaten en bespreking

De gemiddelde afmetingen van de gehydrateerde niet-behandelde en gedekapsuleerde cysten, evenals de dikte van het chorion van de onderzochte geografische rassen van Artemia zijn samengevat in Tabel XVII. Het is duidelijk dat er aanzienlijke verschillen voorkomen tussen de diverse rassen. Voor niet behandelde gehydrateerde cysten varieert de diameter tussen 224,7 en 284,9 μm ; voor de gedekapsuleerde cysten bedragen de uitersten respectievelijk 207,3 μm en 266,3 μm . Ook de dikte van het chorion verschilt van het ene ras tot het andere en varieert tussen 3 en 13,35 μm . Er blijkt echter geen verband te bestaan tussen de schaaldikte en de cystendiameter.

Tabel XVII. De afmetingen der cysten van diverse geografische oorsprong

Geografische Oorsprong	Diameter onbehandelde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Diameter gede- kapsuleerde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Choriondikte (μm)
<u>Afrika</u>							
Tunesië : Chott Ariana	268,9	18,3	21104	245,3	18,1	16274	11,80
<u>Amerika</u>							
Argentinië : Buenos Aires	238,2	13,2	108317	217,4	13,9	90592	10,40
Bahama's : Great Inagua	229,1	11,0	14211	210,0	12,3	11756	9,55
Brazilië : Macau	228,7	11,0	45081	213,8	12,0	40122	7,45
Canada : Chaplin Lake	245,4	15,3	45126	234,0	16,1	38730	5,70
Colombia : Galera Zamba	249,9	12,3	62239	232,7	11,2	60247	8,60
Manaure	237,0	12,8	43120	220,8	13,6	40046	8,10
Ecuador : Pacoa	226,2	11,1	13279				
Mexico : Bahia de Ceuta	224,9	11,5	12781	207,3	12,2	11035	8,80
Yavaros Sonora	228,9	9,7	16428	213,1	10,4	10176	7,90
Nederlandse Antillen : Bonaire	236,9	12,8	17800	219,0	12,3	14179	8,95
Peru : Chilca	246,9	13,0	17728	226,7	11,9	14159	10,10
Virrila	227,1	16,2	18323	208,5	16,5	18034	9,30
Puerto Rico : Bahia salinas	253,7	13,3	67860	233,4	13,7	67116	10,15
Venezuela : Port Araya	249,0	12,6	64583	226,6	12,8	51246	11,20
Tucacas	244,3	12,6	25721	222,6	13,1	16323	10,85
V.S.A. : Great Salt Lake	244,2	16,1	147191	234,8	16,0	120857	4,70
Jesse Lake	234,8	17,0	19722				
Mono Lake	249,4	23,5	27052	243,4	23,2	37185	3,00

Tabel XVII. Vervolg

Geografische Oorsprong	Diameter onbehandelde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Diameter gede-kapsuleerde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Choriondikte (μm)
Playa Tahoka	244,7	13,2	20031	225,8	16,1	16650	9,45
Quemado	239,7	11,8	40283	224,7	11,8	14061	7,50
San Francisco Bay	224,7	12,4	122500	210,0	12,7	73498	7,35
San Pablo Bay	235,6	13,0	96687	220,4	14,3	60372	7,60
<u>Australië</u>							
Nieuw Zeeland : Lake Grassmere	231,6	15,4	26204	216,7	16,6	22671	7,45
Queensland : Rockhampton (Port Alma)	231,0	9,9	23110				
West Australië : Shark Bay	260,4	10,4	54318	242,2	11,3	46716	9,10
<u>Azië</u>							
Indië : Bhayander, Bombay	258,0	11,0	17886				
Mithapur	267,7	13,4	31108	248,0	15,6	36672	9,85
Kutch	254,4	16,8	31493	232,4	18,2	39678	11,00
Tuticorin	282,9	14,4	51205	262,7	11,5	37325	10,10
Iran : Lake Urmia	258,1	21,8	31604	245,7	19,5	13231	6,20
Israel : Eilat	274,3	14,9	42602	258,4	15,2	23130	7,95
Sri Lanka : Puttalam	269,8	9,5	15534				
Turkije: Izmir	270,4	15,4	37810	252,9	17,4	16198	8,75
Volksrepubliek China : Tientsin	274,4	16,9	55263	257,8	17,0	51025	8,30
Tsjingtao	270,0	16,9	32690	249,2	16,3	26386	10,40
<u>Europa</u>							
Bulgarije : Burgas	281,0	19,6	20821	263,5	17,5	32180	8,75
Cyprus : Larnaca	261,3	12,2	20580	235,6	14,3	23628	12,85
Frankrijk : Aigues Mortes	259,6	14,1	142435	240,8	14,3	105734	9,40
Lavalduc	276,3	16,8	43713	261,5	16,9	40728	7,40
Salin de Giraud	264,4	14,2	25054				
Salins de Hyères	257,8	16,3	25869				
Villeroy	261,2	10,8	18460				

Tabel XVII. Vervolg

Geografische Oorsprong	Diameter onbehandelde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Diameter gede-kapsuleerde cysten (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten	Choriondikte (μm)
Italië : Margherita di Savoia	284,9	14,6	55899	266,3	14,8	40755	9,30
Portugal : Alcochete	248,4	9,4	14568	233,6	10,6	13793	7,40
Spanje : Barbanera	257,3	13,3	17181	230,6	13,6	17430	13,35
Delta del Ebro	277,8	11,7	20377	258,8	10,6	17519	9,50
San Lucar	253,6	11,7	56190	237,1	12,2	58057	8,25
Santa Pola	248,6	15,3	16172				
USSR : Azov Sea	270,2	14,1	32792	258,9	14,6	21468	5,65
Bolshoe Jarovoe Lake	273,7	13,5	44201	258,6	14,3	35898	7,55
Kujalnic lagoon	273,5	17,6	31544	255,9	17,7	26954	8,80
Mangyshlak peninsula	248,4	12,7	20287	229,1	13,9	17963	9,65
Odessa	259,7	15,6	24646	242,7	12,8	31398	8,50
Sivash	251,4	17,5	50900	229,6	15,6	26094	10,90
Tinaki Lake	280,3	15,5	26246	260,9	14,3	30641	9,70

De absolute waarde van de cystendiameter van de rassen van San Francisco Bay en Great Salt Lake verschilt duidelijk ten opzichte van de gegevens van D'Agostino (1965), die voor deze rassen een diameter van respectievelijk 277 en 297 μm noteerde. De waarde opgegeven door Amat Domenech (1980) voor het ras van San Francisco Bay, namelijk 216 μm , benaderde echter dicht het hier bekomen cijfer. De absolute verschillen in cystendiameter kunnen wellicht verklaard worden door de verschillen in hydratatiecapaciteit als gevolg van verschillen in saliniteit van het inkubatiemedium (Clegg, 1976a) : D'Agostino (1965) gebruikte gedestilleerd water, Amat Domenech (1980) zee-water (30-32 ‰), terwijl wij een medium van 10 ‰ gebruikten. Voor wat de choriondikte betreft vonden Khalaf et al., (1980) een waarde van 6 tot 8 μm voor een niet nader gespecificeerd Artemia-ras, wat binnen het hier bekomen interval ligt.

De statistische interpretatie der verschillen tussen de rassen is zeer subtiel. De toegepaste meetmethode is zeer nauwkeurig en het aantal gemeten cysten zeer groot. Dit had tot gevolg dat statistisch gezien de cystendiameter van praktisch alle rassen onderling significant verschillend was op het niveau 0,01. Algemeen kan immers vastgesteld worden dat op dit niveau verschillen groter dan 1,5 μm als significant konden bestempeld worden. Om die reden werden de gegevens van de statistische analyse hier niet weergegeven.

Bij nadere vergelijking van de cystenafmetingen in functie van de geografische oorsprong der Artemia-rassen valt op dat alle onderzochte Amerikaanse rassen een relatief kleine tot middelmatige cystendiameter hebben. Ze zijn voor zoverre bekend ook alle bisexueel (Bowen et al., 1978, 1980 ; Abreu-Grobois en Beardmore, 1980, 1982 ; zie ook Hoofdstuk 6.1.). Niettemin kunnen ook tussen de Amerikaanse rassen niet onaanzienlijke verschillen genoteerd worden. Volgens Margalef (1974) volgt de morfologie bij diverse lage en hogere diersoorten thermische regels waarbij de afmetingen toenemen naarmate de omgevingstemperatuur afneemt of bij toenemende breedtegraad. Deze regel geldt blijkbaar niet voor de afmetingen van Artemia-cysten : immers de cystendiameter van de subtropische of tropische rassen van Port Araya (Venezuela), Chilca (Peru) en Bahia Salinas (Puerto Rico) evenaart deze van de rassen van Chaplin Lake en Great Salt Lake die op een relatief hoge breedtegraad voorkomen. Anderzijds komen ook relatief grote verschillen in diameter voor tussen rassen van dichtbij elkaar gelegen lokaliteiten, zoals Chilca en Virrila in Peru en Manaure en Galera Zamba in Colombia.

Het is daarenboven opvallend dat een aantal rassen een cystendiameter vertonen die weinig afwijkt van deze van het reeds lange tijd commercieel geëxploiteerde ras van San Francisco Bay : Great Inagua, Macau, Pacoa, Bahia de Cueta, Yavoros Sonora en Virrila. Het ras van Macau is ontstaan na transplantatie van San Francisco Bay-Artemia. Op basis van dit gegeven is het niet onwaarschijnlijk dat de eerder opgesomde biotopen eertijds geënt geweest zijn met San Francisco Bay-cysten. Evenzo is het goed mogelijk dat de rassen van Galera Zamba, Chilca, de Bahia Salinas en Port Araya, die qua cystenafmetingen een grote gelijkenis vertonen met het Great Salt Lake-ras, ontstaan zijn door inbreng van cysten van dit commercieel geëxploiteerde ras. Bovendien is Great Salt Lake een belangrijk broedgebied voor vogels (Anoniem, 1979) en liggen de meeste hierboven vermelde rassen op de pacifische vluchtroute van diverse vogelsoorten (Dorst, 1962). Onze vaststellingen laten dan ook toe de hypothese van Clark en Bowen (1976) te bevestigen, namelijk dat de verspreiding van Artemia-rassen in Amerika te wijten is aan disseminatie door vogels ; menselijke interventie moet hier echter wellicht aan toegevoegd worden.

De choriondikte van de Amerikaanse rassen varieert aanzienlijk. De cysten van Mono Lake bezitten het dunste chorion van alle onderzochte rassen. Dit dun chorion met een sterk gereduceerde alveolaire laag en bijgevolg een minimum aan luchtkamers (zie Hoofdstuk 6.5.) ligt wellicht aan de basis van het feit dat Mono Lake-cysten, in tegenstelling tot deze van alle andere Artemia-rassen, in hun natuurlijk milieu bezinken (Mason, 1967 ; Lenz, 1980). Analooq is het relatief dun chorion van Great Salt Lake-cysten wellicht verantwoordelijk voor de gedeeltelijke bezinking van deze cysten (Stephens en Gillespie, 1972).

In Australië en Nieuw-Zeeland kunnen 2 groepen onderscheiden worden. De eerste groep omvat de rassen afkomstig uit Rockhampton en Lake Grassmere waarvan de cysten grote gelijkenis vertonen met die van sommige monsters van San Francisco Bay (zie verder in Tabel XVIII). Op basis van hun genetische studies nemen Clark en Bowen (1976) aan dat deze rassen wellicht ontstaan zijn na introductie van San Francisco Bay-cysten (zie ook Geddes, 1979, 1980). De cysten van Shark Bay daarentegen hebben een grote diameter die vergelijkbaar is met deze van andere parthenogenetische rassen.

Alle rassen van de zogenaamde "Oude Wereld" produceren relatief grote cysten, met een choriondikte die varieert van middelmatig tot vrij groot. Terwijl de variatie tussen de Aziatische rassen eerder gering is, kunnen aanzienlijke verschillen genoteerd worden tussen de Europese rassen.

Hoewel er geen eenduidige korrelatie voorkomt tussen de afmetingen der cysten en de onderverdeling der rassen in de verschillende "sibling species" van Artemia, blijkt uit de bekomen resultaten dat de "sibling species" enkele bijzondere kenmerken vertonen met betrekking tot de cystenafmetingen (Fig. 28) :

- de gemiddelde cystendiameter van de rassen die behoren tot het Artemia franciscana "sibling species" ($237,1 \mu\text{m}$; $s : 8,21 \mu\text{m}$) is significant kleiner ($\alpha = 0.01$) dan de gemiddelde waarde bekomen voor de Artemia tunisiana-rassen ($262,5 \mu\text{m}$; $s = 5.9 \mu\text{m}$)
- er kan geen significant verschil ($\alpha = 0.05$) in cystendiameter genoteerd worden tussen de Artemia tunisiana-rassen, het ras van Urmia (Artemia urmiana) en de rassen van het Artemia parthenogenetica "sibling species" ($267,7 \mu\text{m}$; $s : 11,4 \mu\text{m}$)
- de afmetingen van de cysten van Buenos Aires (Artemia persimilis) zijn analoog aan deze van de Artemia franciscana-groep
- de gemiddelde choriondikte van de rassen behorend tot Artemia tunisiana ($12,7 \mu\text{m}$; $s = 0.8 \mu\text{m}$) is significant groter dan deze van het Artemia franciscana ($8,0 \mu\text{m}$; $s = 1.8 \mu\text{m}$) en Artemia parthenogenetica ($8,9$; $s = 1,3 \mu\text{m}$) "sibling species" tussen dewelke geen significant verschil kan aangetoond worden ; de embryo's van het Artemia tunisiana "sibling species" zijn daardoor significant kleiner dan deze van het Artemia parthenogenetica "sibling species".

Deze vaststellingen sluiten goed aan bij de evolutietheorie van Abreu-Grobois en Beardmore (1982), die op basis van hun genetische karakterisatie postulieren dat de parthenogenetische rassen zouden ontstaan zijn uit de Europese bisexuele Artemia (de ankestrale vorm), terwijl het Artemia persimilis "sibling species" uit de Amerikaanse bisexuele vorm (Artemia franciscana) zou voortgekomen zijn. Bovendien leveren de bekomen resultaten reeds een eerste indikatie op van het genotypisch karakter van de biometrische kenmerken, zoals het geval blijkt te zijn voor Chirocephalus (Mura et al., 1978).

In dit licht werd nagegaan waardoor de grootteverschillen teweeggebracht zijn. Artom (1920, 1922) stelde duidelijke verschillen vast in oppervlakte van de nukleï van de intestinale cellen bij diverse geografische rassen van Artemia. Op basis van deze gegevens stelde hij zelfs de onderverdeling voor van het genus Artemia in 2 species, namelijk "microperenic" (kleine nukleï) en "macroperenic" (grote nukleï) Artemia. Deze verschillen in nukleus-afmetingen, die tot een faktor 3 kunnen oplopen, werden later bevestigd door

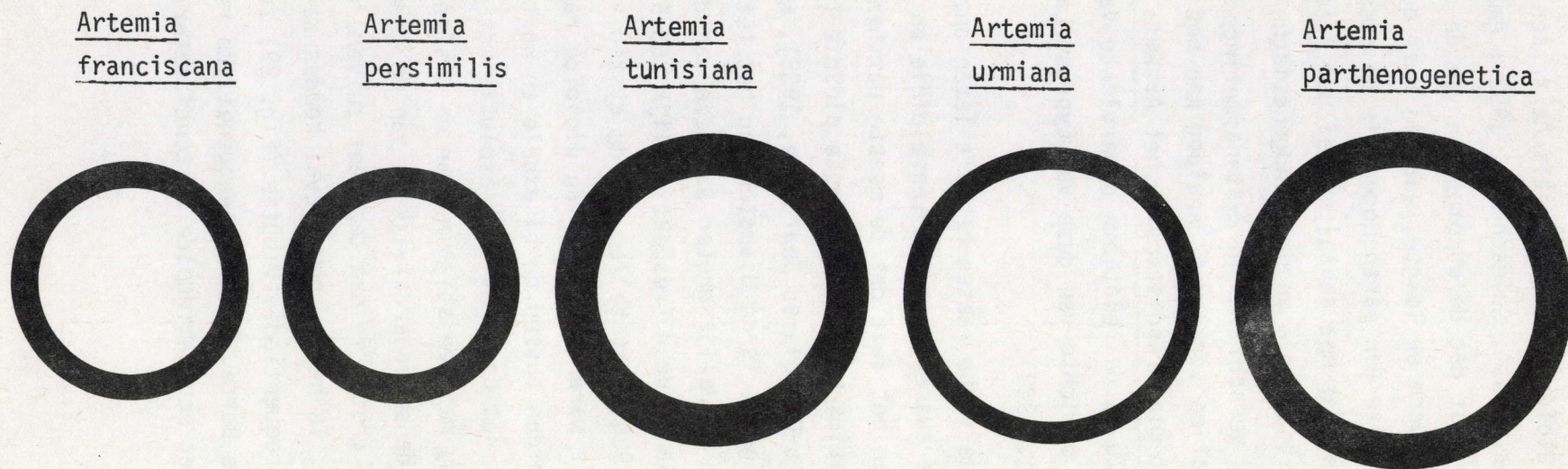


Fig.28. De gemiddelde cystenafmetingen van de diverse "sibling species" van Artemia

Stella (1933). Deze auteur rapporteerde bovendien analoge verschillen in celoppervlakte. De kleinste nukleï werden gevonden bij de bisexuele rassen, terwijl de grootste nukleï genoteerd werden voor de parthenogenetische (tetraploïde) rassen. De diploïde parthenogenetische rassen namen een tussenliggende positie in (Stella, 1933 ; Goldschmidt, 1952 ; Amat Domenech, 1980). Stella (1933) stelde verder vast dat de chromosomen van de diverse Artemia-rassen verschillend waren in vorm en lengte, waarbij deze der bisexuele rassen duidelijk kleiner waren dan deze der parthenogenetische rassen. Deze gegevens, aangevuld met de vaststelling dat het aantal nukleï per Artemia-cyste niet verschilt tussen de diverse bisexuele en parthenogenetische rassen (Olson en Clegg, 1976) kunnen dan ook de verschillen in cystenafmetingen tussen de bisexuele en parthenogenetische populaties verklaren. Analooq kan het verschil in grootte tussen de cysten van het Artemia franciscana en het Artemia tunisiana "sibling species" verklaard worden. Zo is de relatieve oppervlakte van de San Francisco Bay nukleï slechts 0,45 ten opzichte van deze van Cyprus (Larnaca?) (Artom, 1922 ; zie ook Amat Domenech, 1980).

Voor wat de parthenogenetische rassen betreft laten onze gegevens geen rechtstreekse korrelatie toe tussen de graad van ploïdie en de cystenafmetingen. Dit is wellicht te wijten aan het feit dat de meeste parthenogenetische rassen opgebouwd zijn uit subpopulaties met verschillende ploïdie (Amat Domenech, 1980 ; Barigozzi, 1974, 1980 ; Abreu-Grobois en Beardmore, 1982), waarbij de verhouding niet gekend is. In elk geval is de diameter van het tetraploïde ras van de Delta del Ebro (277,8 μm) duidelijk groter dan deze van de diploïde rassen van Salins de Giraud en San Lucar (respektievelijk 263,5 en 253,6 μm). Analooq kon Amat Domenech (1980) vaststellen dat de cysten van Spaanse tetraploïde rassen significant groter waren dan deze van diploïde rassen. Bovendien kon geen verschil vastgesteld worden tussen de bisexuele en parthenogenetische diploïde rassen. Dit bevestigt dat de genetische evolutie met een toename van de graad van ploïdie, gepaard ging met een stijging van de cystenafmetingen. Het dient ook opgemerkt dat de standaardafwijking van de gemengd diploïd-tetraploïde rassen duidelijk groter is dan deze der zuivere diploïde rassen of zuiver tetraploïde rassen. In het extreem geval konden zelfs twee pieken geregistreerd worden op de frequentiedistributie (Fig. 29) zoals voor het cystenmonster van de Etang de Berre. Dit parthenogenetisch ras is duidelijk opgebouwd uit 2 populaties met een gemiddelde cystendiameter van respektievelijk 256,5 en 282,5 μm .

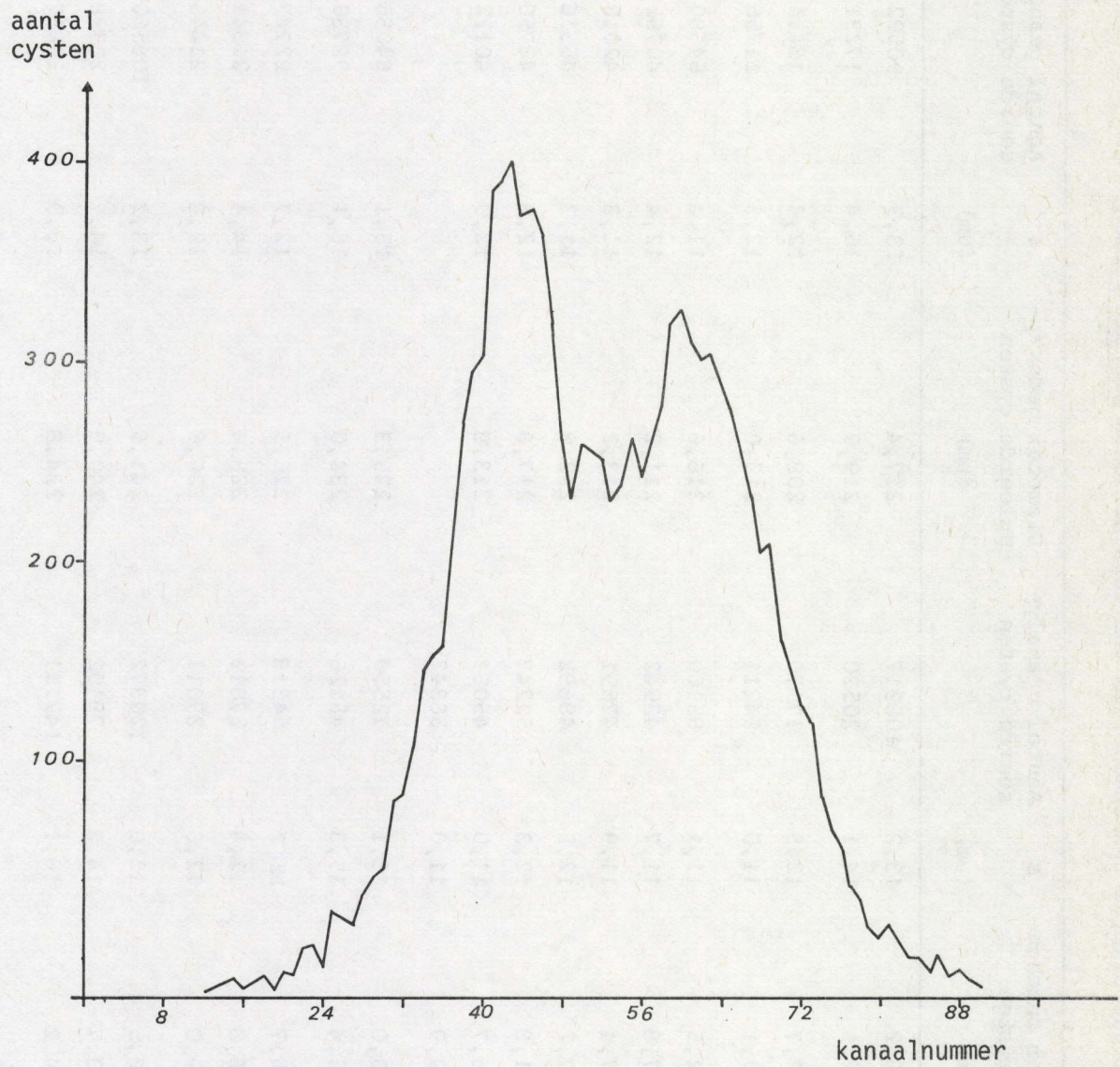


Fig.29. Grootte-verdeling van de cysten van Etang de Berre

Tabel XVIII. De cystenafmetingen van diverse cystenmonsters van verschillende Artemia-rassen.

Geografische oorsprong	Diameter onbehandelde cysten	s	Aantal geanalyseerde cysten	Diameter gedekapsuleerde cysten	s	Aantal geanalyseerde cysten	Choriondikte
	(μm)	(μm)		(μm)	(μm)		(μm)
Buenos Aires -1977	238,2	13,2	108317	217,4	13,9	90592	10,40
-1979	238,1	14,1	20520	219,9	16,4	17231	9,10
Great Inagua -1979	228,7	12,5	17176	208,6	12,4	13414	10,05
-1981	229,1	11,0	14211	210,0	12,3	11756	9,55
Macau -maart 1978	232,5	11,1	85160	216,6	11,4	64680	7,95
-mei 1978	227,8	11,7	43942	211,2	12,4	40762	8,30
-oktober 1978	227,4	11,9	47591	213,2	11,3	42015	7,10
-nr. 870191	227,7	12,5	48682	212,9	11,3	45316	7,40
-nr. 87500	231,8	12,3	52247	217,6	12,8	48758	7,10
-nr. 871172	228,7	11,0	45081	213,8	12,0	40122	7,45
-nr. 971051	229,9	11,0	36342				
Chaplin Lake -1978	240,0	16,1	72550	229,3	15,1	64055	5,35
-1979	245,4	15,3	45126	234,0	16,1	38730	5,70
Port Araya - augustus 1977	246,7	12,7	54318	226,5	12,7	22747	10,10
- januari 1978	246,8	13,4	27619	226,4	14,4	21841	10,20
- mei 1978	249,0	12,6	27011	226,6	12,8	21246	11,20
Great Salt Lake -1966	252,5	13,0	120372	241,6	13,2	106560	5,45
-1968	253,7	14,8	78102	240,9	14,7	20398	6,40
-1977	244,2	16,1	147191	234,8	16,0	120857	4,70

Vervolg Tabel XVIII.

Geografische oorsprong	Diameter onbehandelde cysten	s	Aantal geanalyseerde cysten	Diameter gedekapsuleerde cysten	s	Aantal geanalyseerde cysten	Choriondikte
	(μm)	(μm)		(μm)	(μm)		(μm)
Great Salt Lake -1978 (nr. 18)	249,0	14,4	48101				
-1978 (nr. 185)	253,2	13,4	56524	240,7	11,6	15135	6,25
-1979	251,6	13,8	69118	239,6	11,9	17823	6,00
San Francisco Bay							
nr. 288-2596	224,7	12,4	122500	210,0	12,7	73498	7,35
nr. 288-2606	224,6	11,9	81842	210,5	12,3	71566	7,05
nr. 2847	223,9	11,7	46468	209,7	12,8	43222	7,10
nr. 236-2013	224,3	11,8	83699	207,7	11,1	65641	8,30
nr. 933235	228,7	12,3	85162	212,1	11,3	71439	8,30
Tuticorin -	283,8	10,2	115706	262,0	11,0	98726	10,90
-1978	282,9	14,4	51205	262,7	11,5	37325	11,10
Shark Bay - nr. 113	259,7	9,7	46821	242,9	10,1	41078	8,40
- nr. 114	260,4	10,4	54318	242,2	11,3	46716	9,10
- 1980	268,3	10,6	19673	252,2	12,0	22402	8,05
Tientsin - 1	274,4	16,9	55263	257,8	17,0	51025	8,30
- 2	273,9	15,6	46428				
Margherita di Savoia -1977	284,9	14,6	55899	266,3	14,8	40755	9,30
-1978	281,3	17,4	13867	264,0	16,9	31929	8,65

De bovenstaande beschrijvingen geven reeds een aanduiding van het genetisch karakter van de cystenafmetingen. Ten einde over meer evidentie te beschikken werden de afmetingen vergeleken van diverse cystenmonsters geoogst op verschillende tijdstippen van het jaar of gedurende verschillende jaren.

De resultaten van de analyses van de verschillende cystenmonsters zijn voor diverse geografische rassen samengevat in Tabel XVIII. Uit de statistische analyse bleken tussen sommige monsters significante verschillen voor te komen. Zoals hierboven reeds is aangestipt kunnen reeds zeer kleine verschillen als significant bestempeld worden. Uit Tabel XIX, waarin de resultaten van de statistische analyse der Macau-monsters weergegeven is, blijkt echter dat er geen eenvormigheid is in de resultaten. Zo kunnen de cystenmonsters van Macau in diverse groepen onderverdeeld worden, waarvan de samenstelling verschilt naargelang het gekozen criterium.

Tabel XIX. Resultaten van de statistische analyse van diverse cystenmonsters van Macau. De monsters verbonden door eenzelfde lijn zijn niet significant verschillend op het niveau 0,01.

Diameter niet behandelde cysten (μm)		Diameter gedekapsuleerde cysten (μm)		Choriondikte (μm)	
Oktober 1978	227,4	Mei 1978	211,2	Oktober 1978	7,10
870191	227,7	870191	212,9	87500	7,10
Mei 1978	227,8	Oktober 1978	213,2	870191	7,40
871172	228,7	871172	213,8	871172	7,45
971051	229,9	Maart 1978	216,6	Maart 1978	7,95
87500	231,8	87500	217,6	Mei 1978	8,30
Maart 1978	232,5				

Om die reden werden de resultaten in hun geheel onderworpen aan een variantie-analyse (Model II) (zie Hoofdstuk 6.8.) teneinde de relatieve variantie tussen de monsters van eenzelfde ras te evalueren ten opzichte van de variantie tussen de diverse rassen. Hieruit bleek dat voor wat de diameter van de onbehandelde en gedekapsuleerde cysten betreft de variantie tussen de

monsters binnen de rassen respectievelijk 2,1 % en 1,3 % bedroeg ten opzichte van 97,9 en 98,7% voor de overeenkomstige varianties tussen de diverse rassen. De variantie van de choriondikte binnen de rassen bedroeg 10,5 % ten opzichte van 89,5 % tussen de rassen. Het is dus duidelijk dat de afmetingen der cysten in hoofdzaak rasspecifiek zijn en de variaties tussen de monsters van eenzelfde ras minimaal zijn ten opzichte van de verschillen tussen de rassen.

De kleine variaties tussen de diverse monsters van eenzelfde ras kunnen te wijten zijn aan veranderingen der milieukondities in de respectievelijke biotopen (zie verder) of de kwaliteit en kwantiteit van het voedsel. Voor wat commerciële cystenmonsters betreft kan ook de verpakkingstechniek leiden tot kleine verschillen in grootte. Zo kan bij de vulling van recipiënten een ongelijke verdeling ontstaan in functie van de densiteit der cysten. Analyses van diverse recipiënten van eenzelfde monster Macau-en San Pablo Bay-cysten brachten verschillen van 2,1 tot 1,7 μm aan het licht. Een kwantitatief grotere bron van variatie tussen de afmetingen van cysten van eenzelfde biotoop vindt zijn oorzaak in het simultaan voorkomen van meerdere populaties in diverse biotopen. Verschillende auteurs rapporteerden inderdaad dat in eenzelfde biotoop populaties met een verschillende graad van ploïdie, bisexuele en parthenogenetische populaties of populaties die reproductief van elkaar geïsoleerd zijn naast elkaar voorkomen. (Piccinelli en Prosdoci, 1968 ; Piccinelli *et al.*, 1968 ; Amat Domenech, 1982 ; Abreu-Grobois en Beardmore, 1982). Sarasquete (1979) en Amat Domenech (1982) stelden vast dat in dergelijke biotopen de kwantitatieve verhouding tussen de diverse vormen varieert in de tijd onder invloed van de temperatuur en de saliniteit. Eenzelfde fenomeen van genetisch verschillende populaties die elkaar opvolgen in de tijd werd ook reeds voor rotiferen vastgesteld (King, 1980). Het spreekt dan vanzelf dat dergelijke verschuivingen de biometrie der geproduceerde cysten kan wijzigen. De resultaten van de twee cystenmonsters van Santa Pola (Fig. 30) vormen hiervan een goede illustratie. De cysten geoogst in april 1977 hebben een gemiddelde diameter van 248,6 μm . De distributiekurve van de cysten geoogst eind juli van hetzelfde jaar vertoont duidelijk 2 pieken met als gemiddelde diameter respectievelijk 250,3 en 281,9 μm . Deze gegevens lopen dus parallel met de vaststelling van Amat Domenech (1982) dat in het voorjaar praktisch uitsluitend de bisexuele vorm voorkomt terwijl in de zomer de parthenogenetische vorm (tetraploïd ; Abreu-Grobois en Beardmore, 1982) zich sterk ontwikkelt. Het verschil tussen de monsters van Shark Bay is wellicht te wijten aan de introductie van een bisexueel ras in dit biotoop (Geddes, 1980). Het monster nr. 114 bevatte nog een klein percentage mannetjes. In 1980 echter was de populatie terug volledig parthenogenetisch.

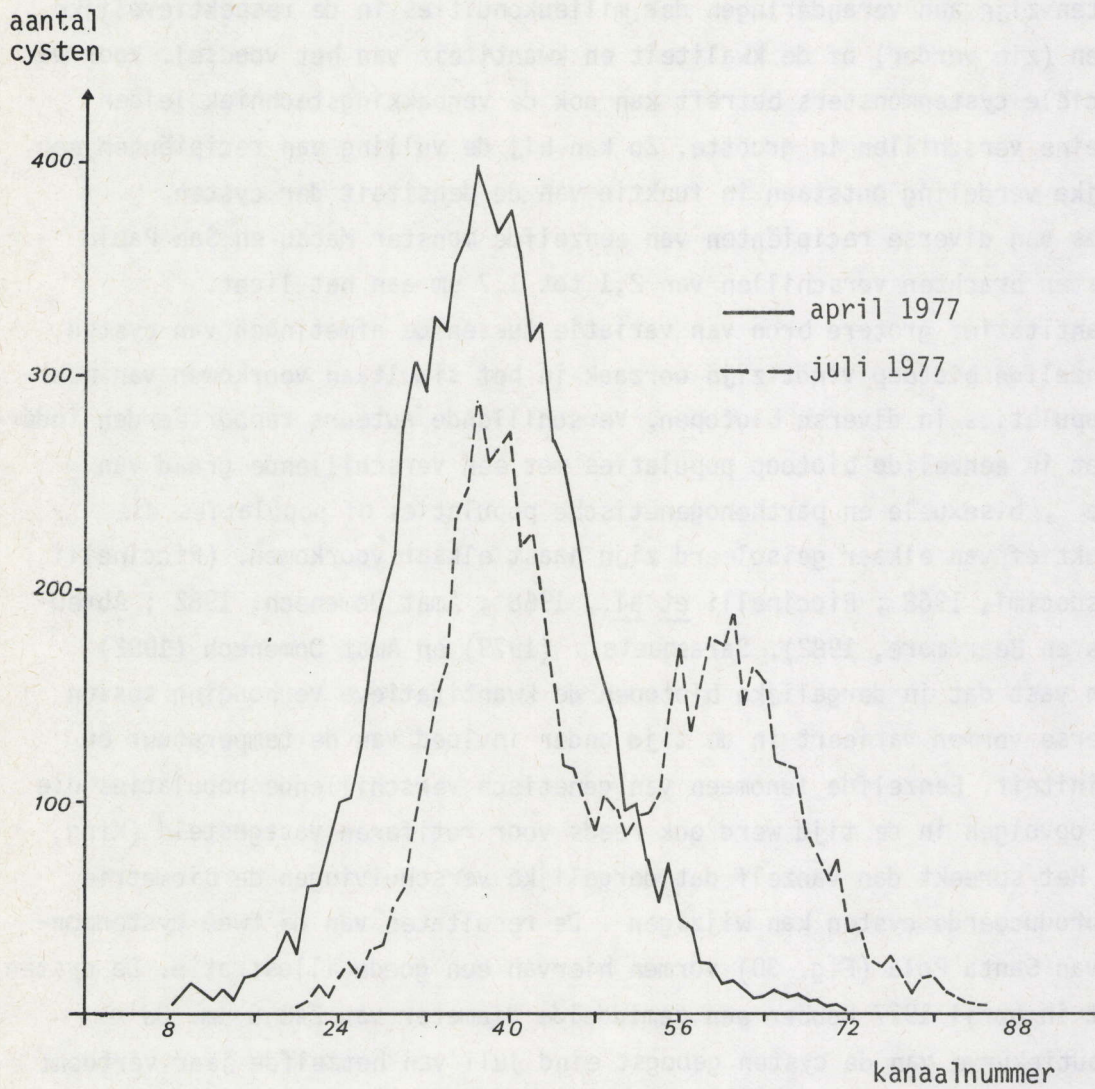


Fig.30. Grootte-verdeling van de cysten van Santa Pola geogost op 2 verschillende tijdstippen

De variatie tussen de monsters van Great Salt Lake kan zijn oorsprong vinden in de grote ekologische wijzigingen die zich aldaar voorgedaan hebben na de bouw van een dam dwars door het zoutmeer (Stephens en Gillespie, 1972; Stephens, 1974 ; Post, 1977a). Volgens niet bevestigde informatie (Klein McPhee, pers. meded.) zou tevens een aanzienlijke kwantiteit San Francisco Bay-nauplii in het Great Salt Lake gebracht zijn om de cystenproduktie die tussen 1970 en 1976 kontinu daalde (Sanders, pers. meded.) terug op peil te brengen. Dit zou eventueel de relatief lage waarde der cystendiameter van het in 1977 geoogste monster kunnen verklaren. In dit verband kan ook de relatief hoge standaarddeviatie van dit monster aangestipt worden.

Een laatste doch zeker niet te verwaarlozen oorzaak van variatie tussen diverse cystenmonsters dient gezocht in commerciële belangen m.b.t. de verkoop van Artemia-cysten. Zo konden we aanvankelijk het verschil van meer dan 10 μ m tussen het monster nr. 1628 en de meeste overige San Francisco Bay-monsters niet verklaren. Alle monsters werden verkocht door de San Francisco Bay Band Company met de vermelding : "Only San Francisco Bay brine shrimp eggs used". Naderhand vernamen we echter dat het monster nr. 1628 in feite afkomstig is van San Pablo Bay in de Napa vallei, ongeveer 300 km ten noorden van San Francisco Bay (Schmidt, pers. meded.). Het is dus duidelijk dat we hier te doen hadden met 2 verschillende geografische rassen van Artemia.

In ieder geval zijn de verschillen tussen de monsters van eenzelfde ras zeer klein in verhouding tot de verschillen tussen de rassen. Ten einde in detail te kunnen nagaan in hoeverre de cystenafmetingen genetisch gebonden en erfelijk zijn, werden de afmetingen bepaald van cysten geproduceerd in diverse biotopen in de natuur of onder specifieke laboratoriumomstandigheden, uitgaande van wel bekend inokulatiemateriaal. De diameter van de na inokulatie geproduceerde cysten is samen met de gegevens voor het entmateriaal weergegeven in Tabel XX. Op uitzondering van het monster van Mundra waarvan ruim 8.000 cysten gemeten werden, bedroeg het aantal geanalyseerde cysten steeds meer dan 10.000. Hoewel sommige van de verschillen significant zijn, blijkt duidelijk dat de cysten die na inokulatie geproduceerd zijn qua diameter slechts weinig afwijken van het parentaal materiaal. De diameter van het cystenmateriaal ontstaan na inokulatie met San Francisco Bay-cysten is in de meeste gevallen iets groter dan deze van het entmateriaal. Dit is echter geen algemene regel wat blijkt uit de afmetingen van de cysten van Mundra en Javelosa. Evenmin zijn de in Thailand geproduceerde cysten die oorspronkelijk afkomstig waren van Macau, in diameter veranderd.

Tabel XX. De diameter van na inokulatie geproduceerde cysten

Inokulatieplaats	Diameter gepro- duceerde cysten (μm)	s (μm)	Oorsprong Entmateriaal	Diameter cysten entmateriaal (μm)	s μm
Macau (Brazilië)	229,4 ¹	11,6 ¹	San Francisco Bay	225,2 ²	12,0 ²
Barotac Nuevo (Filippijnen)	228,0	13,0	San Francisco Bay	225,2 ²	12,0 ²
Javelosa (Filippijnen)	225,2	11,7	San Francisco Bay	225,2 ²	12,0 ²
Mundra (Indië)	222,1	10,8	San Francisco Bay monster n° 288-2596	224,7	12,4
Thailand (13/02/1979)	232,6	12,2	San Francisco Bay monster n° 65034	225,8	14,3
(26/03/1979)	232,2	11,8	San Francisco Bay monster n° 65034	225,8	14,3
(16/04/1979)	232,1	16,8	San Francisco Bay monster n° 65034	225,8	14,3
Thailand	230,2	13,1	Macau monster n° 102402	230,9	12,2
Thailand	231,9	12,3	Macau monster n° 971051	229,9	11,9
Pangasinan (Filippijnen)	229,7	12,6	Macau San Francisco Bay Shark Bay	229,3 224,7 261,5	—
Birma	278,4	13,5	Tientsin	274,4	16,9

¹ Als diameter en standaarddeviatie voor de Macau-cysten werd het gemiddelde genomen van de diverse geanalyseerde Macau-monsters.

² Daar het monsternummer van de San Francisco Bay-cysten ons onbekend is werd de gemiddelde diameter en standaarddeviatie van de onderzochte San Francisco Bay-monsters opgegeven.

De resultaten bekomen met Macau-cysten (Tabel XVIII) tonen aan dat jaren na de inokulatie de cystenafmetingen niet noemenswaardig veranderd zijn. De diameter van het cystenmateriaal van Pangasinan, ontstaan na een menginokulatie met 3 rassen, laat toe te besluiten dat de Artemia van Macau en San Francisco Bay aldaar de bovenhand gehaald hebben. De afmetingen van de cysten van Birma tenslotte, tonen aan dat ook na inokulatie met een parthenogenetisch ras dit biometrisch kenmerk der cysten behouden blijft.

De gemiddelde diameter van de cysten van verschillende geografische oorsprong die onder gekontroleerde kondities geproduceerd werden in het laboratorium is weergegeven in Tabel XXI. Het is duidelijk dat de abiotische kondities slechts zeer geringe invloed hebben op de cystendiameter. De cysten geproduceerd bij 180 ‰ blijken iets kleiner te zijn dan deze geproduceerd bij een lagere saliniteit. Collins (1978) vond echter geen korrelatie tussen de afmetingen der cysten en de saliniteit in hun natuurlijk biotoop. De kweektemperatuur bleek geen invloed uit te oefenen op de cystendiameter. Dit kan nochtans wel het geval zijn voor wat de kwantiteit geproduceerde cysten betreft (Collins, 1977). Noch het type kweekstelsel, noch de aard van voedsel konden een consistente afwijking in cystendiameter bewerkstelligen. De aard van de voeding kan nochtans een invloed hebben op de chemische samenstelling der dieren (Claus et al., 1979 ; Dobbeleir et al., 1980) en de chemische samenstelling der geproduceerde cysten en bijgevolg ook op de sorptiecapaciteit der cysten (Clegg, 1978). De kleine variaties in cystendiameter die genoteerd werden, zijn niet eenduidig en kunnen niet aan één of meerdere van de bestudeerde parameters toegeschreven worden.

Deze vaststellingen laten dan ook toe te konkluderen dat de diameter der cysten slechts in geringe mate beïnvloed wordt door de milieukondities en dus niet zozeer een fenotypisch doch wel een rasgebonden, genetisch gekontroleerd kenmerk is. Dit onderscheidt Artemia van diverse andere aquatische invertebraten, o.a. cladoceren en copepoden, waarbij de afmetingen der eieren variëren in functie van de voedsel- en predatiekondities (Hutchinson, 1967 ; Kerfoot, 1974 ; Cooney en Gehrs, 1980) als ekologische strategieën om de levenskansen te vergroten. Ekologisch gezien is de onafhankelijkheid der cystengrootte van milieukondities bij Artemia enigszins te verklaren, daar het hier om de produktie van cysten gaat die niet onmiddellijk tot ontluiking komen, doch slechts ontluiken wanneer de omstandigheden gunstig zijn.

Tabel XXI. De diameter van cysten van verschillende geografische oorsprong in het laboratorium geproduceerd onder gecontroleerde kondities.

Parentaal materiaal			Produktiekondities	Geproduceerd materiaal		
Oorsprong	Diameter (μm)	s (μm)		Diameter (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten
SFB nr. 288-2596	224.7	12.4	25° C - 35% ¹	223.5	14.6	11227
			25° C - 90% ¹	223.7	16.7	34062
			25° C - 180% ¹	222.0	15.3	13575
			22° C - 90% ¹	223.0	-	100
			22° C - 90% ¹	223.2	-	100
Macau mei 1978	227.8	11.7	25° C - 90% ¹	226.9	12.4	25020
			15-18° C - 35% ²	226.7	14.1	37892
Great Salt Lake nr. 185	253.2	13.4	25° C - 35% ²	250.7	13.2	5614
			25° C - 70% ³	253.5	12.3	11616
Lavalduc	276.3	16.8	25° C - 70% ³	278.7	17.2	7388
Buenos Aires	238.2	13.2	25° C - 35% ⁴	237	12.4	100
Chaplin Lake 1978	245.4	15.3	25° C - 35% ⁴	240.0	14.6	100
			25° C - 31% ⁵	246.7	16.5	3099
Manaure	237.0	12.8	25° C - 31% ⁵	234.6	15.4	5400

¹ geproduceerd door Versichele (zie Versichele en Sorgeloos, 1980) met rijstvoerschroot als voedsel

² geproduceerd in een "race way" systeem (zie Bossuyt en Sorgeloos, 1980) met rijstvoerschroot als voedsel

³ geproduceerd door Lavens in een "flow through" systeem met rijstvoerschroot als voedsel (Lavens, 1981)

⁴ geproduceerd met wieren (Dunaliella) als voedsel

⁵ geproduceerd met wieren (Tetraselmis) als voedselbron (Amat Domenech, 1980)

Het erfelijk karakter van de cystenafmetingen heeft voor gevolg dat de biometrische kenmerken der cysten een goed middel vormen voor de karakterisatie van Artemia-rassen en bijgevolg een uitstekend hulpmiddel zijn voor de bepaling van de geografische oorsprong van niet gespecificeerde monsters. Bovendien kunnen metingen met de Coulter Counter^R-apparatuur ook leiden tot de identifikatie van kommerciële cystenmengsels of onjuiste vermeldingen met betrekking tot de geografische oorsprong der cysten. Zo kon de verkeerde etiketering van de San Francisco Bay Brand Company op die manier achterhaald worden.

In het licht van de onzekerheid van de werkelijke oorsprong van de cysten van de San Francisco Bay-area en gezien het groot belang van de kennis van de exakte afkomst van deze cysten voor gebruik in de aquakultuur (zie Hoofdstuk 13.2), werden diverse monsters van de San Francisco Bay Brand Company geanalyseerd (Tabel XXII).

Tabel XXII. De diameter van diverse cystenmonsters afkomstig van de San Francisco Bay area

Monsternummer	Diameter (μm)	s (μm)	Aantal geanalyseerde cysten
1971 ¹	223,3	11,9	15112
313-3006	225,0	12,8	10550
65034	225,8	14,3	47228
321-995	226,7	12,5	9830
1840	227,9	15,7	18557
1448	228,5	12,7	15408
2018	232,6	12,0	17033
1649	233,1	13,4	10604
3348	233,5	13,2	12062
3008	234,4	13,0	27488
3490	234,5	13,0	18491
1739	235,1	12,2	16378
3288	235,3	12,8	16945
3150	235,7	12,4	23679
2149	235,8	13,0	12239

¹oogstjaar

Op basis van de cystendiameter kan een duidelijk onderscheid gemaakt worden tussen de bestudeerde monsters. Een eerste groep met een diameter begrepen tussen 223 en 227 μm kan op die basis gekatalogeerd worden als San Francisco Bay-monsters. Een tweede groep met een cystendiameter van 232 à 236 μm heeft analoge afmetingen als de San Pablo Bay-cysten. Daarnaast komen nog enkele monsters voor met een tussenliggende cystendiameter. Op basis van de s-waarden is het echter weinig waarschijnlijk dat het hier gaat om mengmonsters.

Deze gegevens bevestigen de mededeling van Lai (pers. meded) als zouden er 2 tot 3 verschillende typen van cysten geoogst worden in de omgeving van San Francisco. De onderverdeling der cystenmonsters op basis van hun afmetingen is zeer goed gekorreleerd met het vetzuurpatroon der nauplii van de diverse monsters (Léger et al., 1983b). Vermits het vetzuurpatroon der nauplii bepaald wordt door de voedselkondities van de reproducerende adulten (Hinchcliffe en Riley, 1972 ; Vos et al., 1983), is het zeer goed mogelijk dat de onderscheiden cystenmonsters geproduceerd werden in verschillende biotopen. Uit de goede korrelatie met de cystenafmetingen volgt verder dat de San Pablo Bay-en San Francisco Bay-cysten kunnen onderscheiden worden aan de hand van hun biometrische kenmerken.

7.2. Het gewicht en de energie-inhoud der cysten

Slechts enkele auteurs hebben het individueel gewicht van Artemia-cysten bepaald. Hierbij werd praktisch uitsluitend melding gemaakt van de cysten van San Francisco Bay. De bekomen waarden lopen sterk uiteen. Dutrieu (1960) rapporteerde een waarde van 3,98 μg voor de cyste en 2,68 μg voor het embryo. Clegg (1964) daarentegen noteerde respectievelijk 2,55 en 1,98 μg . 10 jaar later rapporteerde dezelfde auteur echter een waarde van respectievelijk 3,60 en 2,87 μg . (Clegg, 1974). Kurata (1967) vond een individueel gewicht van slechts 1,74 μg per San Francisco Bay-cyste.

Het individueel drooggewicht van Great Salt Lake-cysten gerapporteerd door deze auteur (3,48 μg) stemde echter goed overeen met de waarde gevonden door Von Hentig (1971), namelijk 3,21 μg . Deze auteur noteerde een drooggewicht van 2,52 μg voor het ontschaalde embryo en een energie-inhoud van 5549 cal/g organisch materiaal. Voor de embryo's van Tuticorin tenslotte noteerde Royan (1980) een individueel drooggewicht van 3,38 μg en een energie-inhoud van 5448 cal/g organisch materiaal.

Gezien de grote verschillen in afmetingen der cysten mogen we verwachten dat ook hun gewicht en energie-inhoud zal variëren van ras tot ras. In die kontekst werden gewichtsanalyses en energetische bepalingen uitgevoerd op de embryo's van diverse Artemia-rassen. Daartoe werd per monster ongeveer 2 g cystenmateriaal gezuiverd en gedekapsuleerd (zie Hoofdstuk 6.5). De bepaling van het individueel drooggewicht, het asgehalte en de energetische inhoud der cysten werd uitgevoerd volgens de methoden beschreven in hoofdstuk 6.7. Het organisch gewicht en de individuele energie-inhoud der embryo's werden berekend uitgaande van het drooggewicht en respectievelijk het asgehalte en de energetische inhoud.

De resultaten zijn samengevat in Tabel XXIII. Zoals verwacht zijn er grote verschillen tussen de diverse Artemia-rassen voor wat betreft het individueel drooggewicht der embryo's. Zo weegt een gedekapsuleerde cyste van Margherita di Savoia ruim dubbel zo veel als een San Francisco Bay-embryo. Uit de statistische analyse (t-toetsen) der resultaten bleek echter geen significant verschil ($\alpha = 0,05$) voor te komen tussen de diverse monsters van eenzelfde ras, met uitzondering van de monsters van Great Salt Lake. De grote ekologische veranderingen die zich in dit biotoop voorgedaan hebben zijn hier wellicht niet vreemd aan (Stephens en Gillespie, 1972). Er konden geen significante verschillen genoteerd worden tussen San Francisco Bay-embryo's en embryo's geproduceerd na inokulatie met dit ras in Macau en Barotac Nuevo. Dit wijst erop dat evenals de cystenafmetingen ook het individueel gewicht der embryo's rasgebonden is en slechts minimale wijzigingen ondergaat tengevolge van gewijzigde milieukondities bij hun produktie.

Het gewicht der gedekapsuleerde cysten bleek bovendien zeer goed gekorreleerd te zijn met hun volume (bekomen na Coulter Counter^R analyses; zie paragraaf 7.1.1. in dit hoofdstuk): de korrelatiecoëfficiënt bedraagt 0,975 (Fig. 31). Dit betekent dat het gewicht der embryo's van diverse geografische oorsprong vrij nauwkeurig kan geschat worden uitgaande van hun volume.

Het asgehalte maakt slechts een gering percentage uit van het drooggewicht en varieert slechts weinig tussen de diverse rassen. De gedekapsuleerde cysten van Buenos Aires en vooral Chaplin Lake bevatten echter meer as dan deze der overige rassen, terwijl Shark Bay-embryo's duidelijk het laagste asgehalte bezitten. De hier bekomen cijfers van Great Salt Lake stemmen overeen met de waarde gerapporteerd door Von Hentig (1971), namelijk 4,92 %. Gezien de geringe verschillen in asgehalte zijn de verschillen in organisch gewicht tussen de diverse rassen analoog aan de drooggewichtsverschillen.

Tabel XXIII. Het individueel drooggewicht, asgehalte, organisch gewicht en de energie-inhoud van gedekapsuleerde Artemia-cysten van diverse geografische oorsprong.

Geografische oorsprong	Drooggewicht (μg)		Asgehalte (%DS)		Organisch gewicht (μg)	Energetische inhoud (Joule/gDS)		Ind. energieinhoud (10^{-3}Joule)
	\bar{X}	s	\bar{X}	s		\bar{X}	s	
San Francisco Bay(288-2596)	2,15	0,11	4,37	0,40	2,06	23250	248	500
San Francisco Bay(288-2606)	2,17	0,12	4,37	0,29	2,08	22940	432	498
Macau (mei 1978)	2,25	0,15	4,31	0,54	2,15	22650	271	510
Macau (871172)	2,30	0,13	4,21	0,11	2,20	22540	270	518
Barotac Nuevo	2,21	0,18	4,09	0,20	2,12	23370	397	516
San Pablo Bay	2,48	0,11	4,28	0,01	2,37	23160	233	574
Great Salt Lake (1966)	3,79	0,19	4,33	0,20	3,63	22380	416	848
Great Salt Lake (1977)	3,23	0,21	4,51	0,02	3,08	22900	299	740
Chaplin Lake (1978)	3,00	0,24	5,31	0,56	2,84	-	-	-
Chaplin Lake (1979)	3,05	0,16	5,36	0,03	2,89	23010	600	702
Bahia Salinas	2,87	0,19	4,82	1,08	2,73	-	-	-
Buenos Aires	2,66	0,14	5,26	0,24	2,52	22290	336	593
Galera Zamba	3,14	0,20	4,17	0,07	3,01	-	-	-
Shark Bay	3,42	0,15	3,78	0,05	3,29	23050	189	788
Tientsin	4,17	0,18	5,09	0,29	3,96	21740	171	907
Lavalduc	3,98	0,22	4,25	0,09	3,91	21890	531	871
Margherita di Savoia	4,51	0,17	4,49	0,28	4,31	21380	285	964

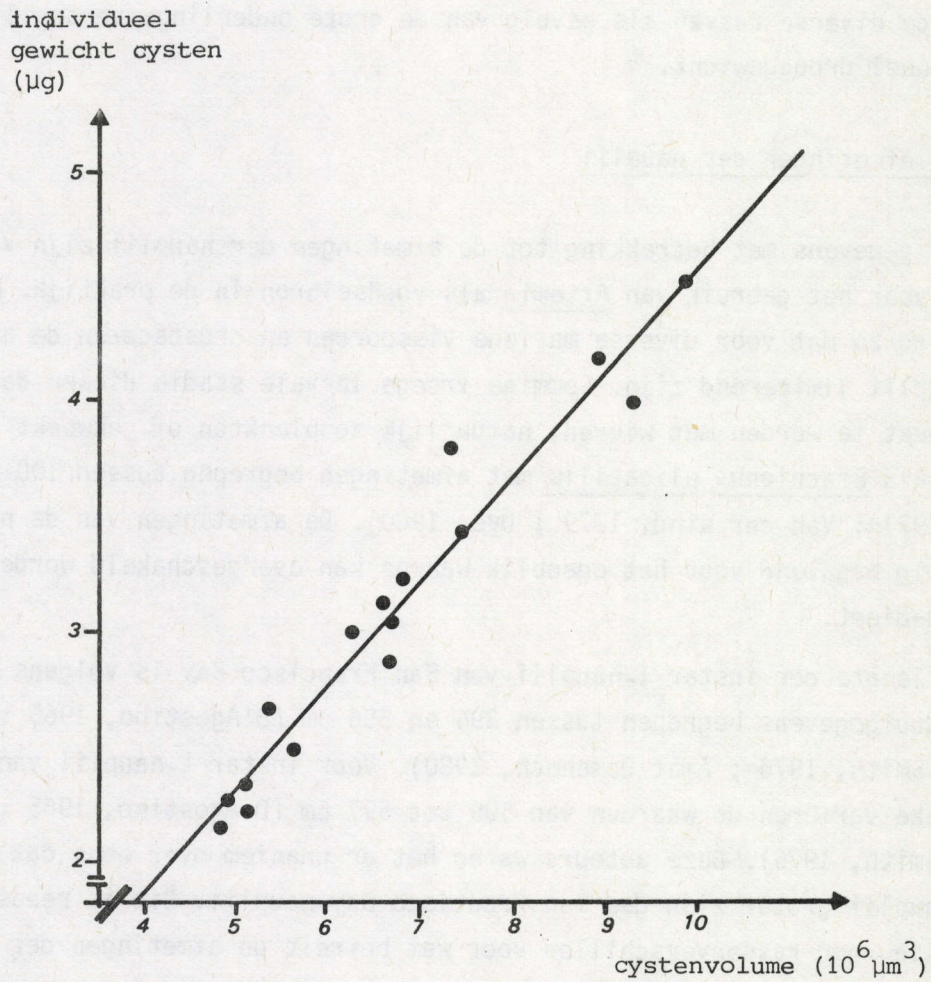


Fig.31. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en hun individueel gewicht

In tegenstelling tot het drooggewicht varieert de energetische inhoud van de gedekapsuleerde cysten slechts weinig tussen de diverse rassen. Het maximaal verschil bedraagt slechts 9,3 %. Een statistische analyse der resultaten (variantieanalyse, model I, gevolgd door de Duncan-toets) wees echter uit dat de embryo's der parthenogenetische rassen, Tientsin, Lavalduc en Margherita di Savoia per gewichtseenheid significant minder energie bevatten dan de bisexuele rassen. De individuele energie-inhoud der embryo's varieert echter aanzienlijk tussen de diverse rassen als gevolg van de grote onderlinge verschillen in individueel drooggewicht.

7.3. De afmetingen der nauplii

De gegevens met betrekking tot de afmetingen der nauplii zijn van belang voor het gebruik van Artemia als voedselbron in de praktijk. Het is inderdaad zo dat voor diverse mariene vissoorten en crustaceën de afmetingen der nauplii limiterend zijn. Sommige vroege larvale stadia dienen dan ook opgekweekt te worden met wieren, natuurlijk zooplankton of gekweekt zooplankton, zoals Brachionus plicatilis met afmetingen begrepen tussen 100 en 200 μm (May, 1971a; Van der Wind, 1979; Dye, 1980). De afmetingen van de nauplii zijn bijgevolg bepalend voor het ogenblik waarop kan overgeschakeld worden op een Artemia-dieet.

De lengte der instar I-nauplii van San Francisco Bay is volgens diverse literatuurgegevens begrepen tussen 394 en 556 μm (D'Agostino, 1965; Sorgeloos, 1975; Smith, 1976; Amat Domenech, 1980). Voor instar I-nauplii van Great Salt Lake variëren de waarden van 509 tot 697 μm (D'Agostino, 1965; Sorgeloos, 1975; Smith, 1976). Deze auteurs waren het er unaniem over eens dat Great Salt Lake-nauplii groter zijn dan San Francisco Bay-nauplii. Dit is reeds een eerste indicatie voor rassenverschillen voor wat betreft de afmetingen der nauplii.

Een belangrijk aspect dat dient in beschouwing genomen te worden bij de vergelijking der afmetingen van nauplii is hun ouderdom. Artemia-nauplii nemen immers in lengte toe vanaf het ogenblik dat zij uit de cyste te voorschijn komen. (D'Agostino, 1965; Hentschel, 1968; Sorgeloos, 1975). Het is dan ook noodzakelijk een standaardprocedure uit te werken zodat de nauplii van verschillende geografische oorsprong bij de meting dezelfde leeftijd hebben. Om die reden werden de nauplii steeds gemeten op het ogenblik waarop 90 % der nauplii tot ontluiking gekomen waren (T90, zie Hoofdstuk 8.5.2). Voor de rassen met een geringe ontluikingssynchronie werd de meting uitgevoerd 8 tot 10 h na de verschijning van de eerste larven. De betrouwbaarheid van deze methode werd nagegaan door voor een 5-tal rassen de aldus bekomen lengte te vergelijken met de

lengte van nauplii die maximaal 2 h oud waren. Het verschil in lengte bleek vrij konstant te zijn en was steeds begrepen tussen 13.8 en 18.9 μm . Het gevolgde tijdschema leverde bovendien een goede referentie op voor de lengte der nauplii rond de tijd waarop zij bij voorkeur toegediend worden als voedselbron (zie verder in 7.4.).

Per ras of cystenmonster werden 120 nauplii gemeten volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.6. De resultaten der metingen zijn samengevat in Tabel XXIV.

Het is duidelijk dat aanzienlijke verschillen optreden tussen de diverse rassen. Het maximaal verschil overtreft 100 μm . De statistische analyse van de gegevens (t-testen) wees zelfs uit dat tussen de monsters van Macau onderling significante verschillen voorkomen. Dit geldt echter niet voor de monsters van San Francisco Bay en Chaplin Lake. De parthenogenetische rassen, in het bijzonder deze met een hogere graad van ploëdie (Tientsin, Lavalduc, Eilat, Tuticorin en Margherita di Savoia) produceren de grootste nauplii. Dit bevestigt de bevindingen van Amat Domenech (1980) voor diverse Spaanse Artemia-rassen.

De lengtegegevens leveren dus een eerste indicatie op met betrekking tot de opnamemogelijkheden der nauplii voor predatoren. Het opnamemechanisme kan echter in ruime mate verschillen van predator tot predator. Vissen nemen de nauplii meestal in hun geheel op. We hebben echter kunnen vaststellen dat diverse crustaceëen hun prooi in stukken trekken vooraleer het naar binnen te werken. Daarenboven kan ook de hoek waaronder de nauplii opgenomen worden sterk variëren. Om die reden menen wij dat niet alleen de lengte maar ook het volume van de nauplii de opnamemogelijkheid kan bepalen.

Met behulp van de Coulter Counter^R-apparatuur werd de volume-index van de nauplii bepaald. Onder volume-index verstaan we het gemiddeld volume van de nauplii die onder verschillende oriëntaties door de buisopneming opgezogen worden ; de nauplii worden daarbij beschouwd als sferische equivalenten. De meting werd uitgevoerd volgens hetzelfde tijdschema als voor de lengtemeting het geval was. De meettechniek met de Coulter Counter^R was analoog aan deze gebruikt voor de bepaling van de cystenafmetingen, op uitzondering voor de volgende regelingen :

- diameter buisopening : 1000 μm
- 1/"amplification" : 4
- "count range" : 100

Daar de bewegingen van de nauplii geen precieze metingen toelieten werd de viscositeit van de elektrolytoplossing verhoogd door toevoeging van 10% glycerol.

Tabel XXIV. De lengte van instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong.

Geografische oorsprong	Gemiddelde lengte (μm)	Standaard- deviatie (μm)
San Francisco Bay (288-2596)	428	29
San Francisco Bay (288-2606)	431	24
San Pablo Bay (1628)	433	27
Macau (mei 1978)	429	23
Macau (871172)	447	23
Macau (872112)	454	25
Macau (971051)	433	23
Barotac Nuevo	429	28
Great Salt Lake (1966)	489	29
Great Salt Lake (1977)	486	31
Chaplin Lake (1978)	468	29
Chaplin Lake (1979)	475	36
Buenos Aires	431	29
Manaure	456	27
Port Araya	474	32
Galera Zamba	480	31
Bahia Salinas	452	22
Shark Bay	458	17
Tientsin	515	35
Lavalduc	509	30
Eilat	506	27
Tuticorin	509	18
Margherita di Savoia	517	30

Tabel XXV. Volume-index van nauplii van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Gemiddelde volume-index	s	Aantal ge- meten nauplii
San Francisco Bay (288-2596)	7638	1731	21177
San Francisco Bay (288-2606)	7764	1808	24048
Macau (mei 1978)	7667	1680	22165
Macau (871172)	8314	1849	23939
Macau (971051)	8101	1741	23862
Barotac Nuevo	7991	1651	21822
San Pablo Bay (1628)	8141	1908	27606
Great Salt Lake (1966)	9717	1941	23003
Great Salt Lake (1977)	9091	1929	22113
Chaplin Lake	8930	2492	30693
Buenos Aires	7734	1726	21016
Manaure	8062	1839	20938
Port Araya	9548	2053	24490
Galera Zamba	10578	2241	24923
Bahia Salinas	9090	1661	22997
Shark Bay	10249	1839	21331
Tientsin	13097	2658	29960
Lavalduc	12724	2754	23433
Margherita di Savoia	13604	2108	21269

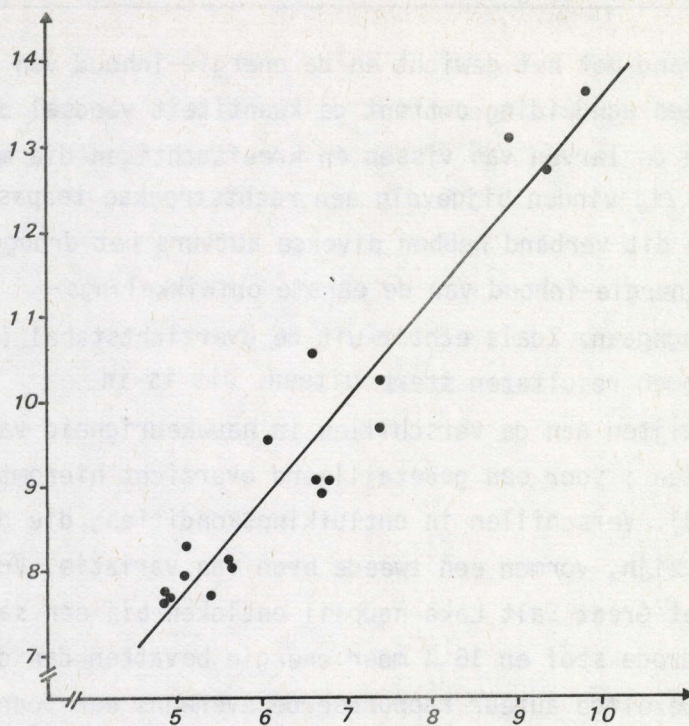
De bekomen resultaten zijn samengevat in Tabel XXV. De verschillen tussen de Artemia-rassen komen hier nog duidelijker tot uiting. Het maximaal verschil loopt op tot ruim 80 %. De volgorde van de diverse rassen is praktisch dezelfde als voor de lengtemetingen. Dit is eveneens het geval bij vergelijking van de afmetingen der nauplii en de cystenafmetingen (zie Tabellen XVII en XVIII). Er blijkt immers een significante ($\alpha=0,01$) positieve korrelatie te bestaan tussen de biometrische kenmerken der cysten en nauplii :

- diameter gedekapsuleerde cysten (μm) - lengte nauplii (μm) :
 $Y = 100,4 + 1,5744 X \quad (r=0,94)$
- diameter onbehandelde cysten (μm) - lengte nauplii (μm) :
 $Y = 101,3 + 1,4698 X \quad (r = 0,91)$
- volume gedekapsuleerde cysten ($10^3 \mu\text{m}^3$) - volume-index nauplii :
 $Y = 1762,1 + 1,1773 X \quad (r = 0,96)$
- volume onbehandelde cysten ($10^3 \mu\text{m}^3$) - volume-index nauplii :
 $Y = 1468,5 + 1,0037 X \quad (r = 0,97)$

De korrelatie tussen de diameter en het volume der gedekapsuleerde cysten en respektievelijk de lengte en de volume-index der nauplii is geïllustreerd in de Fig. 32 en 33. Het volstaat dus de biometrische kenmerken der cysten te kennen om vrij nauwkeurig de afmetingen der nauplii te bepalen.

De bekomen resultaten vormen reeds een eerste leidraad bij de selectie van Artemia-rassen als voedselbron voor diverse predatoren. Als de afmetingen der nauplii een limiterende faktor vormen voor het opnamemechanisme van de predator, kunnen betere resultaten verwacht worden bij het gebruik van rassen die kleine nauplii produceren . Smith (1976) stelde vast dat de larven van Lepomis macrochirus binnen enkele dagen afstierven bij gebruik van Great Salt Lake-nauplii als voedselbron ten gevolge van uithongering : "a microscopic examination of the gut of these larvae showed no food material". De kleinere San Francisco Bay-larven daarentegen konden wel opgenomen worden en verzekerden een goede overleving. Beck et al. (1980) die de biologische geschiktheid van de nauplii van 5 Artemia-rassen hebben uitgetest voor Menidia menidia-larven, noteerden een hoge mortaliteit analoog aan deze bij niet gevoede dieren voor vislarven gevoed met Margherita di Savoia-nauplii. Beck en Bengtson (1981) konden bovendien een positieve korrelatie vastleggen tussen de lengte der nauplii van 9 verschillende Artemia-rassen en de mortaliteit van Menidia-larven gedurende de eerste 5 dagen van de kweek (voor meer details hieromtrent verwijzen wij naar hoofdstuk 13.2.3).

volume-index
nauplii



volume gedekapsuleerde cysten ($10^6 \mu m^3$)

Fig. 32. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en de volume-index der nauplii

lengte nauplii (μm)

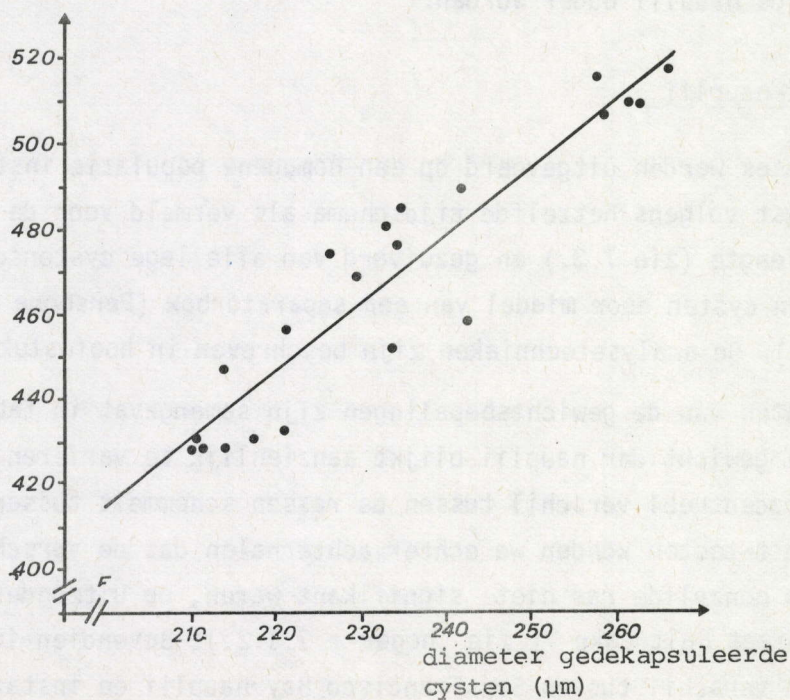


Fig. 33. De korrelatie tussen de diameter van gedekapsuleerde cysten en de lengte der nauplii

7.4. Gewicht, asgehalte en energie-inhoud van de eerste larvale stadia

Gegevens in verband met het gewicht en de energie-inhoud van Artemia-nauplii verstrekken een aanduiding omtrent de kwantiteit voedsel die ter beschikking staat van de larven van vissen en kreeftachtigen die met deze prooi gevoed worden. Zij vinden bijgevolg een rechtstreekse toepassing in de aquakultuur. In dit verband hebben diverse auteurs het drooggewicht, het asgehalte en de energie-inhoud van de eerste ontwikkelingsstadia van Artemia nagegaan. Zoals echter uit de overzichtstabel (Tabel XXV) blijkt, lopen de bekomen resultaten sterk uiteen. Dit is in de eerste plaats te wijten aan de verschillen in nauwkeurigheid van de aangewende analysetechnieken ; voor een gedetailleerd overzicht hieromtrent verwijzen wij naar Lavens (1979). Verschillen in ontluikingscondities, die door diverse auteurs niet vermeld zijn, vormen een tweede bron van variatie. Von Hentig (1971) stelde immers vast dat Great Salt Lake-nauplii ontloken bij een saliniteit van 5 ‰, 14 % meer droge stof en 16 % meer energie bevatten dan de larven ontloken bij 32 ‰. Dezelfde auteur rapporteerde eveneens een toename van het drooggewicht van 8 tot 11 % bij een inkubatietemperatuur die steeg van 10° tot 30° C ; een mogelijke verklaring voor deze vaststellingen wordt besproken in hoofdstuk 8.4. De voornaamste oorzaak van de resultaatsverschillen dient wellicht echter gezocht bij de onnauwkeurige aanduiding van de leeftijd en het larvale stadium van de nauplii ; uit de gegevens van Paffenhöfer (1967), Benijts et al. (1976) en Royan (1980) blijkt immers dat het drooggewicht daalt naarmate de nauplii ouder worden.

7.4.1. Instar I-nauplii

Alle analyses werden uitgevoerd op een homogene populatie instar I-nauplii afgeogst volgens hetzelfde tijdschema als vermeld voor de analyses van nauplius -lengte (zie 7.3.) en gezuiverd van alle lege cystenschalen en niet ontloken cysten door middel van een separatorbox (Persoone en Sorgeloos, 1972). De analysetechnieken zijn beschreven in hoofdstuk 6.7.

De resultaten van de gewichtsbepalingen zijn samengevat in Tabel XXVII. Het individueel gewicht der nauplii blijkt aanzienlijk te variëren van ras tot ras. Het procentueel verschil tussen de rassen schommelt tussen 5 en 100 %. Aan de hand van t-testen konden we echter achterhalen dat de verschillen tussen de monsters van eenzelfde ras niet significant waren, op uitzondering van de monsters van Great Salt Lake (zie hoger : 7.1.2.). Bovendien is er evenmin een significant verschil tussen San Francisco Bay-nauplii en instar I-larven

Tabel XXVI. Overzicht van de literatuurgegevens met betrekking tot het drooggewicht, het asgehalte en de energetische inhoud van Artemia-nauplii.

Geografische oorsprong, leeftijd en ontluikingskondities	Individueel drooggewicht (μ g)	Asgehalte (%van DS)	Energetische inhoud (Joule/g org. mat.)	Referentie
<u>San Francisco Bay</u>				
nauplii (18°C ; 30 ‰)	1,5			Urbani (1959)
nauplii (26°C ; 33 ‰)	2,87		27621	Dutrieu (1960)
nauplii (25°C ; 20 ‰)	1,93			Clegg (1962)
nauplii (20°C ; 33 ‰)	1,64			May (1971a)
nauplii, instar I (28°C ; 35 ‰)	1,85	6,03	23256	Benijts et al. (1976)
nauplii, instar II-III (28°C ; 35 ‰)	1,48	11,28	23030	"
nauplii, 0,6 mm	2,7	14,7	24959	Dutrieu (1960)
<u>Great Salt Lake</u>				
nauplii, instar I (30°C ; 32 ‰)	1,92	6,56	24662	Von Hentig (1971)
nauplii, pas ontloken	1,65	5,91	24913	Paffenhöfer (1967)
na 24h bij 20°C	1,58	9,81	24813	"
na 48h bij 20°C	1,42	11,49	23549	"
nauplii, 2 dagen oud		9,6		Anoniem (1964)
<u>Tuticorin</u>				
nauplii, instar I (30°C ; 35 ‰)	2,80	5,74	21934	Royan (1980)
instar II (")	2,50	8,30	20569	"
instar III (")	1,40	12,00	20176	"
<u>Oorsprong niet vermeld</u>				
nauplii			28194	Slobodkin en Richman (1961)

Tabel XXVII. Individueel drooggewicht, asgehalte en organisch gewicht der instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Drooggewicht(μ g)		Asgehalte (%van DS)		Organisch gewicht (μ g)
	\bar{X}	s	\bar{X}	s	
San Francisco Bay (288-2596)	1,63	0,11	6,33	0,15	1,53
San Francisco Bay (288-2606)	1,61	0,09	6,17	0,10	1,51
Macau (mei 1978)	1,68	0,11	5,83	1,11	1,58
Macau (871172)	1,74	0,08	5,88	0,03	1,64
Macau (971051)	1,75	0,06	5,34	0,11	1,66
San Pablo Bay (1628)	1,92	0,08	5,62	0,15	1,81
Barotac Nuevo	1,68	0,03	6,07	0,10	1,58
Great Salt Lake (1966)	2,70	0,13	5,74	0,05	2,55
Great Salt Lake (1977)	2,42	0,11	5,69	0,25	2,28
Chaplin Lake (1978)	1,97	0,13	6,78	0,39	1,84
Chaplin Lake (1979)	2,04	0,18	6,59	0,26	1,91
Buenos Aires	1,72	0,07	6,32	0,28	1,61
Galera Zamba	2,27	0,08	6,32	0,07	2,12
Bahia salinas	2,10	0,11	5,51	0,06	1,99
Manaure	1,78	0,07	5,92	0,29	1,67
Port Araya	2,07	0,09	6,39	0,25	1,94
Shark Bay	2,47	0,13	5,28	0,10	2,34
Tientsin	3,09	0,11	6,63	0,16	2,89
Lavalduc	3,08	0,16	6,03	0,69	2,90
Eilat	3,00	0,13	6,05	0,18	2,82
Tuticorin	3,17	0,10	5,77	0,05	2,99
Margherita di Savoia	3,33	0,18	6,17	0,15	3,13

van Macau en Barotac Nuevo. Dit duidt erop dat het gewicht van de pas ontloken nauplii in hoofdzaak rasspecifiek is.

Parallel met de biometrische kenmerken der cysten en de afmetingen der nauplii (zie 7.1 en 7.3.) laten ook hier de parthenogenetische rassen de hoogste waarden noteren. Vanuit dit perspectief werden de volgende korrelatievergelijkingen en korrelatiecoëfficiënten berekend :

- volume gedekapsuleerde cysten ($10^6 \mu\text{m}^3$) - DS nauplii (μg) :

$$Y = -0,0562 + 3,42 \cdot 10^{-4} X \quad (r=0,99)$$

- volume onbehandelde cysten ($10^6 \mu\text{m}^3$) - DS nauplii (μg) :

$$Y = 0,0537 + 2,81 \cdot 10^{-4} X \quad (r = 0,97)$$

- volume-index nauplii - DS nauplii (μg) :

$$Y = -0,419 + 2,75 \cdot 10^{-4} X \quad (r=0,96)$$

Er is steeds een zeer significante ($\alpha=0,01$) positieve korrelatie tussen de beschouwde biometrische kenmerken. In het bijzonder is het volume der gedekapsuleerde cysten zeer goed gekorreleerd met het drooggewicht der nauplii (zie ook Fig. 34). Aan de hand van deze biometrische gegevens der cysten die, op een relatief eenvoudige en snelle manier te bepalen is met Coulter Counter ^R apparatuur, kan het drooggewicht der nauplii vrij nauwkeurig bepaald worden.

Het asgehalte varieert slechts in geringe mate tussen de diverse rassen : van 5,28 tot 6,78 % van het drooggewicht. Een analoog cijfer werd bekomen door Paffenhöfer (1967), Benijts et al. (1976) en Royan (1980). De verschillen in organisch gewicht zijn bijgevolg proportioneel met de variaties in drooggewicht. Uitgaande van het drooggewicht kan dus het organisch gewicht nauwkeurig bepaald worden.

In tegenstelling tot het drooggewicht der nauplii varieert de energie-inhoud slechts in geringe mate van ras tot ras (Tabel XXVIII). Het maximaal verschil bedraagt slechts 7,2 % en een variantieanalyse (Model I) wees uit dat de verschillen in de meeste gevallen niet significant zijn. Net zoals voor de gedekapsuleerde cysten het geval is, komen echter duidelijke verschillen tussen de diverse rassen tot uiting wanneer de individuele energie-inhoud in beschouwing genomen wordt. Deze verschillen zijn ook hier praktisch uitsluitend het gevolg van de variaties in individueel drooggewicht van de nauplii.

De verschillen in individueel drooggewicht en individuele energie-inhoud vormen een niet onbelangrijk criterium voor de selectie van specifieke Artemia rassen voor aquakultuuroeleinden. Wanneer de afmetingen der nauplii niet interfereren met het mechanisme voor voedselopname (bv. mond groot genoeg voor het "in toto" innemen van een naupliuslarve) is het inderdaad zo, dat bij

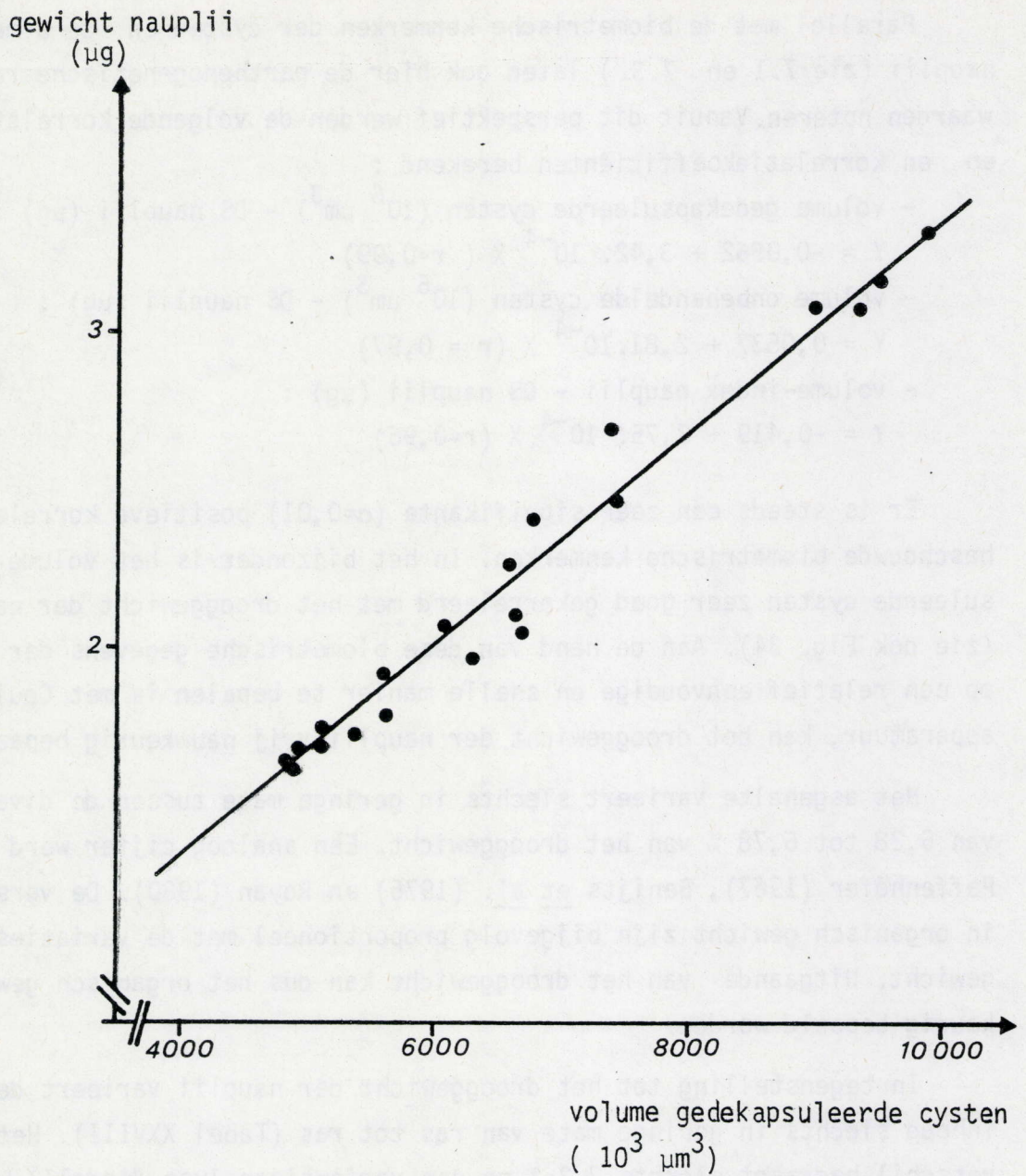


Fig.34. De korrelatie tussen het volume van gedekapsuleerde cysten en het gewicht der nauplii

Tabel XXVIII. De energetische inhoud van instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong.

Geografische oorsprong	Energetische inhoud (Joule per gram droge stof)		Individuele energie-inhoud (10^{-3} Joule)
	\bar{x}	s	
San Francisco Bay (288-2596)	22480	152	366
San Francisco Bay (288-2606)	22380	336	360
Macau (mei 1978)	22710	395	381
Macau (871172)	22520	505	392
Barotac Nuevo	22740	440	382
San Pablo Bay	22330	338	429
Great Salt Lake (1966)	23140	190	625
Great Salt Lake (1977)	22350	291	541
Chaplin Lake	21940	409	448
Bahia Salinas	22390	308	470
Buenos Aires	22020	290	379
Shark Bay	23330	94	576
Tientsin	22050	195	681
Lavalduc	21760	524	670
Margherita di Savoia	21760	162	725

gebruik van energierijke nauplii de predatoren een kleiner aantal nauplii dienen op te nemen om aan hun metabolische behoeften te voldoen. Dit resulteert in een geringer energieverbruik bij de voedselopname, hetgeen de groei begint. Op basis van hun drooggewicht en energie-inhoud genieten de parthenogenetische rassen van Margherita di Savoia, Lavalduc, Tientsin en Shark Bay dan ook de voorkeur op de bisexuele rassen die "kleinere" nauplii produceren.

Bij vergelijking van het gewicht en de energie-inhoud van enerzijds instar I-nauplii en anderzijds gedekapsuleerde cysten (zie Tabellen XXII, XXIII, XXVII en XXVIII) is het duidelijk dat de embryo's zwaarder en energierijker zijn dan de pas ontloken nauplii. Voor de meeste rassen is het relatief verschil vrij analoog, met variaties van 29 tot 40% voor het drooggewicht en van 32 tot 38 % voor de energie-inhoud (Tabel XXIX). De nauplii van Chaplin Lake en Buenos Aires verbruiken echter duidelijk meer energie tijdens het ontluikingsproces. De embryo's van deze rassen bevatten ruim 55 % meer energie dan de instar I-nauplii. De droge-stof gegevens van een tweede monster van Chaplin Lake (verschil: 52 %) wijzen erop dat het hoog verbruik gedurende de ontluiking van dit ras geen éénmalig verschijnsel is. De reden voor dit uitzonderlijk hoog energieverbruik in Chaplin Lake-cysten is wellicht in verband te brengen met de speciale fysico-chemische karakteristieken van dit biotoop. In tegenstelling tot de overige biotopen is het Chaplin Lake immers een sulfaat-meer (Hammer, 1978). Meer evidentie van deze hypothese wordt verstrekt in hoofdstuk 8.4. Voor wat het ras van Buenos Aires betreft zijn geen karakteristieken van het biotoop bekend. Misschien moet een reden gezocht worden in feit dat dit ras de enige vertegenwoordiger is van het Artemia persimilis "sibling species" (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982).

Het feit dat de nauplii aanzienlijk minder energie bezitten dan de gedekapsuleerde cysten is een belangrijk argument voor het gebruik van ontschaalde cysten als rechtstreekse voedselbron in de aquakultuur. Voor eenzelfde hoeveelheid kaloriën zijn immers, afhankelijk van het gebruikte Artemia-ras, 30 tot bijna 60 % meer nauplii nodig dan gedekapsuleerde cysten. Dit betekent dat een belangrijke besparing op de aankoop van de kostelijke Artemia-cysten mogelijk is. De gunstige perspectieven in dit verband zijn reeds voor diverse predatoren aangetoond (Bruggeman et al., 1980).

Tabel XXIX. Procentueel verschil in individueel drooggewicht en individuele energie-inhoud tussen instar I-nauplii en gedekapsuleerde cysten van diverse geografische rassen

Geografische oorsprong	% verschil in droge stof	% verschil in energie
San Francisco Bay (288-2596)	32	37
San Francisco Bay (288-2606)	35	38
Macau (mei 1978)	34	34
Macau (871172)	32	32
Barotac Nuevo	32	35
San Pablo Bay	29	34
Great Salt Lake (1966)	40	36
Great Salt Lake (1977)	33	37
Chaplin Lake	50	57
Bahia Salinas	37	38
Buenos Aires	55	56
Shark Bay	38	37
Tientsin	35	33
Lavalduc	29	30
Margherita di Savoia	35	33

7.4.2. Het gewichtsverbruik en de energiekonsumptie van niet gevoede nauplii

In vele gevallen verblijven Artemia-nauplii die aan predatoren gevoed worden gedurende 24 uur of meer in het kultuurmedium vooraleer ze opgenomen worden. (Wickins, 1972). Niet zelden trouwens worden de nauplii na de ontluiking nog een paar dagen gestockeerd zonder voedseltoediening vooraleer ze als prooi verstrekt worden aan de predator (Jones, 1972 ; Tabb et al., 1972 ; Salser en Mock, 1974). Gedurende deze tijdspanne neemt de voedende waarde der metabolisch aktieve nauplii gevoelig af (Paffenhöfer, 1967 ; Benijts et al., 1976). Laatstgenoemde auteurs stelden ondermeer vast dat in een tijdspanne van 24 uur het droge-stof gehalte der nauplii met 20 % afnam. Het gehalte aan organisch materiaal en de energie-inhoud van de instar II-III-nauplii bedroeg respektievelijk 24 en 27 % minder dan voor de instar I-larven. Voor deze studie van Benijts et al. (1976) werd steeds gebruik gemaakt van cysten afkomstig van San Francisco Bay.

Gezien de talrijke verschillen die reeds tussen de diverse geografische rassen vastgesteld werden, is het te verwachten dat ook het verbruik van droge-stof en organisch materiaal varieert van ras tot ras. Dergelijke verschillen zouden dan indikaties kunnen opleveren voor de selectie van bepaalde rassen voor specifieke aquakultuurdoeleinden. Het gebruik van een ras waarvan de nauplii een hoge voedende waarde bezitten en deze gedurende lange tijd behouden zou inderdaad een optimalisering betekenen van het gebruik van Artemia-nauplii als voedselbron.

Voor deze studie werden de nauplii, afgeogst op het tijdstip T90, overgebracht in een Erlenmeyer in 1 l natuurlijk zeewater. Een geringe aëratie werd voorzien. De nauplii werden op die manier gedurende 24 h bewaard bij 25°C en 1000 lux. Na die tijd werden de exuviae en eventuele afgestorven larven verwijderd door middel van een separatorbox (Persoone en Sorgeloos, 1972). Mikroskopisch onderzoek van een honderdtal nauplii wees uit dat voor alle rassen praktisch alle larven verveld waren tot instar II- en instar III-nauplii. De methodiek voor de gewichtsbepalingen en energieanalyses is beschreven in hoofdstuk 6.7.

De resultaten van de analyses zijn weergegeven in de Tabellen XXX en XXXI. De rasverschillen in individueel drooggewicht en organisch gewicht zijn gelijkaardig aan deze der instar I-nauplii. t-testen wezen uit dat nu ook tussen de monsters afkomstig van hetzelfde parentaal materiaal verschillen kunnen optreden. Zo is het gewicht van de instar II-III nauplii afkomstig

Tabel XXX. Individueel drooggewicht, asgehalte en organisch gewicht van instar II-III larven van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Droge-stof (μg)		Asgehalte (% van DS)		Organisch gewicht (μg)
	\bar{X}	s	\bar{X}	s	
San Francisco Bay (288-2596)	1,25	0,06	10,35	0,15	1,13
San Francisco Bay (288-2606)	1,28	0,06	9,83	0,46	1,15
Macau (mei 1978)	1,15	0,04	10,11	0,31	1,03
Macau (871172)	1,21	0,05	10,21	0,40	1,09
Barotac Nuevo	1,21	0,03	10,08	0,06	1,09
San Pablo Bay	1,36	0,05	10,20	0,83	1,22
Great Salt Lake (1966)	1,82	0,10	9,90	0,29	1,64
Great Salt Lake (1977)	1,59	0,20	9,61	0,38	1,44
Chaplin Lake (1978)	1,55	0,10	11,36	0,41	1,37
Chaplin Lake (1979)	1,59	0,06	11,12	0,37	1,41
Bahia Salinas	1,68	0,05	9,87	0,36	1,51
Buenos Aires	1,13	0,10	9,75	0,33	1,02
Shark Bay	2,07	0,04	8,54	0,07	1,89
Tientsin	2,37	0,14	9,84	0,52	2,14
Lavalduc	2,20	0,17	9,33	0,48	1,99
Margherita di Savoia	2,51	0,10	9,10	0,28	2,29

Tabel XXXI. De energetische inhoud van instar II-III nauplii van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Energetische inhoud (Joule per gram droge stof)		Individuele energie-inhoud (10 ⁻³ Joule)
	\bar{x}	s	
San Francisco Bay (288-2596)	21520	76	269
San Francisco Bay (288-2606)	21120	83	270
Macau (mei 1978)	20880	312	240
Macau (871172)	21120	352	256
Barotac Nuevo	21470	209	260
San Pablo Bay	21110	354	287
Great Salt Lake (1966)	21410	416	390
Great Salt Lake (1977)	21310	144	339
Chaplin Lake	19450	295	309
Bahia Salinas	21810	189	366
Buenos Aires	20370	279	230
Shark Bay	21680	383	449
Tientsin	19940	414	473
Lavalduc	20150	654	443
Margherita di Savoia	20840	93	523

van Macau (mei 1978) significant lager dan dit van San Francisco Bay-larven. Dit is echter niet het geval van de nauplii van Barotac Nuevo of het Macau monster nr. 871172.

De verschillen in asgehalte zijn iets meer uitgesproken dan bij de instar I-nauplii. De instar II-III nauplii van Chaplin Lake bezitten een hoger asgehalte dan de overige bestudeerde rassen. Het asgehalte van Shark Bay-larven is daarentegen echter bijna 1,5 % lager dan de gemiddelde waarde van 10 %. De bekomen absolute cijfers stemmen goed overeen met de waarden gerapporteerd in de literatuur (zie Tabel XXVI).

De energie-inhoud der instar II-III nauplii (Joule /g DS) is over het algemeen iets lager dan deze der instar I-nauplii (zie Tabellen XXVIII en XXXI). Bovendien treedt er reeds een grotere divergentie op tussen de rassen. Het maximaal verschil bedraagt nu 12,1 %. De daling der energie-inhoud is vooral te wijten aan de toename van het asgehalte. Uit de statistische analyse der resultaten bleek dat de instar II-III nauplii van Chaplin Lake significant minder energie bezitten dan de korresponderende nauplii der overige rassen. De variaties in individuele energie-inhoud reflecteren nog steeds in ruime mate deze van het drooggewicht.

Zowel voor wat het drooggewicht als de individuele energie-inhoud betreft is de rangorde der Artemia-rassen niet meer dezelfde als voor de instar I-nauplii. Dit duidt op een variatie in gewichts- en energiekonsumptie gedurende de vroege larvale ontwikkeling. De gegevens omtrent het procentueel energie-verbruik en verbruik van droge-stof voor de diverse rassen, samengevat in Tabel XXXII, tonen aan dat inderdaad aanzienlijke verschillen optreden. De nauplii van Shark Bay verbruiken slechts half zoveel droge-stof als de nauplii van Macau, Great Salt Lake en Buenos Aires.

De verschillen in energie-afname tijdens de ontwikkeling der nauplii kunnen te wijten zijn aan verschillen in hun zwemgedrag (Miller et al., 1979). Er blijkt geen verband te bestaan tussen het energieverbruik en de genetische onderverdeling der rassen; integendeel de verschillen tussen de San Francisco Bay-monsters en de monsters van Macau lijken te wijzen op een mogelijke invloed van milieufactoren of van de oogst- en verwerkingsmethoden der cysten.

Onze gegevens voor het San Francisco Bay-ras stemmen goed overeen met de resultaten van Benijts et al. (1976) die een gewichtsafname van 20 % en een energie-afname van 27% rapporteerden. Paffenhöfer (1967) daarentegen noteerde een gewichts daling van slechts 4 % na 24 h en 14 % na 48 h stockering bij 20° C. Royan (1980) vond anderzijds voor nauplii van Tuticorin een gewichts daling van

Tabel XXXII. Relatief verbruik aan droge-stof en energie door Artemia-
nauplii van diverse geografische oorsprong gedurende een
tijdspanne van 24 uur bij 25°C

Geografische oorsprong	% afname in droge stof	% afname in energie
San Francisco Bay (288-2596)	23	27
San Francisco Bay (288-2606)	20	25
Macau (mei 1978)	32	37
Macau (871172)	30	35
Barotac Nuevo	28	32
San Pablo Bay	29	33
Great Salt Lake (1966)	33	38
Great Salt Lake (1977)	34	37
Chaplin Lake	22	31
Bahia Salinas	20	22
Buenos Aires	34	39
Shark Bay	16	22
Tientsin	23	31
Lavalduc	29	34
Margherita di Savoia	25	28

maar liefst 50 % bij overgang van het instar I-tot het instar III-stadium.

De bekomen resultaten laten toe te konkluderen dat het preferentieel gebruik van instar-I nauplii in de aquakultuur (Benijts et al., 1976) kan veralgemeend worden voor alle rassen. Het gebruik van instar I in plaats van instar II-III nauplii kan inderdaad een belangrijke besparing opleveren met betrekking tot de benodigde hoeveelheid cystenmateriaal. Voor de produktie van een gegeven kwantiteit voedingsenergie bedraagt de besparing gemiddeld 25 à 30 %.

Bovendien zal de predator meer energie spenderen voor de opname van een groter aantal instar II-III nauplii, die zich tevens sneller voortbewegen dan de instar I-nauplii (Miller et al., 1979). De afmetingen der instar II-III larven, die duidelijk groter zijn dan de instar I-nauplii (D'Agostino, 1965 ; Hentschel, 1968 ; Sorgeloos, 1975 ; Smith, 1976) kunnen daarbij voor supplementaire problemen zorgen voor de vroegste larvale stadia van de predatoren. Uit diverse nutritionele proeven is de nutritionele suprematie van instar I-ten opzichte van instar II-III nauplii duidelijk gebleken (Morris, 1956 ; Maddox en Manzi, 1976 ; Smith, 1976 ; Ablett en Richards, 1980).

Gezien de relatief snelle afname van het gewicht en de energie-inhoud der nauplii is het voor de praktijk aan te raden de frekwentie van voedsel-distributie voldoende hoog te houden, zodat de retentietijd van de nauplii tot een minimum beperkt wordt. Wanneer dit om praktische redenen niet mogelijk blijkt, kan het gebruik van nauplii van Shark Bay of Bahia Salinas de verliezen beperken.

7.4.3. Invloed van de stockeringstemperatuur op het drooggewicht der nauplii

Uit het voorgaande is gebleken dat men er energetisch gezien alle belang bij heeft pas ontloken Artemia-nauplii te vervoederen. Gezien men de predator-larven minstens éénmaal per dag moet voederen met Artemia-nauplii, houdt dit echter in dat de inkubatie der cysten evenals het oogsten der nauplii dagelijks dient uitgevoerd te worden. Teneinde de hieraan verbonden arbeid zoveel mogelijk te minimaliseren, werd de mogelijkheid nagegaan om de levende nauplii te stockeren onder zodanige omstandigheden dat ze zo weinig mogelijk energie verbruiken.

Het gewichtsverlies genoteerd door Paffenhöffer (1967) na stockering der nauplii bij 20° C was beduidend lager dan de daling die wij konden vaststellen bij 25° C. De ontwikkelingssnelheid der nauplii blijkt inderdaad af te nemen

Tabel XXXIII. Evolutie van het individueel drooggewicht van nauplii van 3 geografische rassen van Artemia gestockeerd bij een temperatuur van 2-4° C

Geografische oorsprong	Individueel drooggewicht (µg)		Afname in drogestof (%)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
San Pablo Bay	1,87	1,75	2,6	8,9
Great Salt Lake 1977	2,36	2,22	2,5	8,3
Tientsin	3,02	2,85	2,3	7,8

bij een daling van de temperatuur (Sorgeloos et al., 1978b). Om die redenen werd de evolutie van het drooggewicht nagegaan bij nauplii gestockeerd bij 2-4°C, waarbij de metabolische activiteit zeer beperkt is.

Na het afoogsten werden de instar I-nauplii in een cilindrokonische buis gebracht in natuurlijk zeewater onder een milde aëratie. De densiteit der nauplii bedroeg 2000/ml. Er werd voor deze hoge densiteit geopteerd daar deze studie praktijk-gericht was en het dus aangewezen was om in zo dens mogelijke omstandigheden te werken. Na respectievelijk 24 en 48 h stockering werd het drooggewicht der nauplii bepaald. Deze procedure werd uitgevoerd voor 3 Artemia-rassen.

De gemiddelde resultaten van de analyses evenals de procentuele afname van het drooggewicht na de respectievelijke stockeringsperioden zijn samengevat in Tabel XXXIII. Voor de 3 onderzochte rassen is de daling in individueel drooggewicht na 24 h uiterst gering en niet significant (t-testen). Na 48 h daarentegen is in de 3 gevallen een significante daling opgetreden. De afname van $\pm 8\%$ voor de 3 rassen is echter nog steeds vrij gering in vergelijking tot de vermindering in drooggewicht bij bewaring bij 25° C, respectievelijk 29, 34 en 23% voor de nauplii van San Pablo Bay, Great Salt Lake en Tientsin. Mikroskopisch onderzoek der nauplii wees uit dat alle nauplii van de 3 rassen zich na 48 h stockering bij 2-4° C nog steeds in het eerste instar stadium bevonden.

De bewaringstechniek bij een lage temperatuur is dus zeer geschikt om gedurende minstens 24 h grote dichtheden nauplii te stockeren zonder noemenswaardig gewichtsverlies. Deze methode laat dus toe de tijd en arbeid die dient gespendeerd te worden voor de inkubatie der cysten en de oogst der nauplii minstens met 50 % te reduceren. De overleving van de nauplii blijft over het algemeen zeer goed onder de hierboven vermelde kondities. Enkele mogelijke restrikties met betrekking tot de raskeuze zullen in detail besproken worden in hoofdstuk 9.2. In hoofdstuk 13 zal nader ingegaan worden op de voedende waarde der gestockeerde nauplii.

7.5. Konklusies in verband met de verbeterde toepassingsmogelijkheden in de aquakultuur.

De biometrische en energetische karakteristieken van de prooi spelen een belangrijke rol bij de kweek van de larvale stadia van aquakultuurorganismen. De in dit verband bekomen resultaten kunnen bijgevolg leiden tot een gemotiveerde keuze van de meest geschikte Artemia-rassen.

Indien de afmetingen van de Artemia-nauplii geen opnameproblemen opleveren voor de predator, kan verwacht worden dat het gebruik van grote nauplii die een hogere energie-inhoud hebben voordelig zal zijn. Om aan zijn voedselbehoeften te voldoen zal de predator in dit geval immers minder energie verbruiken bij de opname van een kleiner aantal energierijke prooien. Dit is vooral het geval voor vislarven die volgens Rosenthal (1969) en Kentouri en Divanach (1982) dikwijls met geringe efficiëntie prooien vangen. Wankowski en Thorpe (1979) konden zelfs aantonen dat de energie die de predator spendeert tot het verkrijgen van de prooi, de opgenomen energie kan overschrijden wanneer de afmetingen van de prooi beneden een bepaalde drempelwaarde liggen. Het gunstig effect van het gebruik van Artemia-rassen die grote, energierijke nauplii produceren op de groei van vislarven, werd reeds geïllustreerd door Beck et al. (1980), Klein McPhee et al. (1980) en Beck en Bengtson (1981) (zie ook Hoofdstuk 13.2. en 13.3.).

Indien de naupliusgrootte kritisch is voor het opnamemechanisme van de predator kunnen betere resultaten verwacht worden bij gebruik van kleine nauplii. In het extreme geval kan het gebruik van specifieke Artemia-rassen zelfs tot gevolg hebben dat de kweek van predatoren die de grotere nauplii niet kunnen opnemen volledig mislukt (Smith, 1976). Ook Beck et al. (1980) en Beck en Bengtson (1981) stelden een verhoogde mortaliteit vast gedurende de eerste kweekdagen bij gebruik van grote Artemia-rassen als voedsel voor vislarven.

Uit het voorgaande blijkt dus dat de selectie van welbepaalde Artemia-rassen op basis van hun biometrische kenmerken, de kans op succes bij de kweek van aquakultuurorganismen kan verhogen. Daar zowel de grootte der larven als het opnamemechanisme van de gekweekte organismen aanzienlijk kan variëren, dient voor iedere predator afzonderlijk een keuze gemaakt te worden. Op basis van de betreffende literatuur kunnen hier enkele algemene richtlijnen geformuleerd worden. Zo worden voor de meeste gekweekte zoetwatervissen (salmoniden en cypriniden) geen opnamemoeilijkheden verwacht (Nash, 1977 ; Van der Wind, 1979 ; Thorpe en Wankowski, 1979). Voor de species waarbij het gebruik van levend voedsel vereist is, kunnen dus vanaf de eerste voederbeurt grote nauplii verstrekt worden. Mariene vislarven zijn over het algemeen bij de ontluiking kleiner dan de larven van zoetwatersoorten (Nash, 1977 ; Girin, 1979). Vooral gedurende hun eerste levensdagen valt het gebruik van kleine nauplii aan te raden. Voor diverse species zoals de haring, pladijs, tarbot, Sparus auratus en Diplodus sp. zijn Artemia-nauplii zelfs te groot als startvoeder (May, 1971a; Struhsaker et al., 1974 ; Dye, 1980 ; Kentouri en Divanach, 1982). Dit is eveneens het geval voor de belangrijkste vertegen-

woordigers van het genus Penaeus (Tabb et al., 1972 ; Hirata, 1975). Het gebruik van rassen met kleine nauplii zal hier de mogelijkheid scheppen Artemia in te zetten in een vroeger levensstadium van de predator en aldus de tijdrovende en kostelijke kweek van kleine planktonische organismen te beperken. De beschikbaarheid van diverse Artemia-rassen met ruim uiteenlopende biometrische en energetische karakteristieken biedt bovendien de mogelijkheid om naarmate de larven groeien over te schakelen van kleine naar grote nauplii.

Een mogelijke verdere optimalisatie van het gebruik van Artemia in de aquakultuur kan bereikt worden door de aanwending van de ontschaalde embryo's als rechtstreekse voedselbron. Deze bezitten 30 tot 57 % meer energie dan de nauplii. Bovendien is hun volume gemiddeld 30 % kleiner, wat betekent dat ze in een vroeger stadium kunnen vervoederd worden. Recente nutritionele experimenten hebben dan ook aangetoond dat gedekapsuleerde cysten minstens even goede kweekresultaten opleveren als pas ontloken nauplii voor de larven van Metapenaeus monoceros (Royan, 1980) Penaeus monodon, Penaeus indicus, Metapenaeus ensis, Metapenaeus endevouri en Macrobrachium rosenbergii (Lavina en Figuerosa, 1980). Ook voor Chanos chanos (De Los Santos et al., 1980), Lebistes reticulatus, Xiphonophorus helleri en Xiphonophorus maculatus (Stephanou pers. meded.) werden gedekapsuleerde cysten reeds met goed gevolg aangewend.

Het algemeen gebruik van gedekapsuleerde cysten is echter voorlopig nog beperkt door hun fysische eigenschappen, meer bepaald hun relatief grote dichtheid die tot gevolg heeft dat zij vrij snel bezinken. Verder onderzoek in verband met de technologie van het voedseldistributiesysteem of de kweeksystemen, zodat de cysten voldoende lange tijd ter beschikking zijn voor de predatoren, kan wellicht tot gunstige resultaten leiden. Voor de organismen waarvoor de beweeglijkheid van het voedsel niet essentieel is, bvb. Palaemon serratus (Campello, 1982), staat echter niets het gebruik van Artemia-embryo's als rechtstreeks voedselbron in de weg.

Niet alleen tijdens het ontluikingsproces doch ook bij de verdere ontwikkeling der niet gevoede nauplii daalt de kwantitatieve voedingswaarde (Fig. 35). Het is dus aangewezen :- de nauplii zo vlug mogelijk na het beëindigen van de ontluiking te vervoederen;

- de frekwentie van voedseldistributie zodanig te regelen dat de nauplii slechts geringe tijd in het kweekmedium verblijven.

Een belangrijk praktijkgegeven in dit verband is de mogelijkheid de nauplii in een koelkast te bewaren zonder noemenswaardig gewichtsverlies gedurende

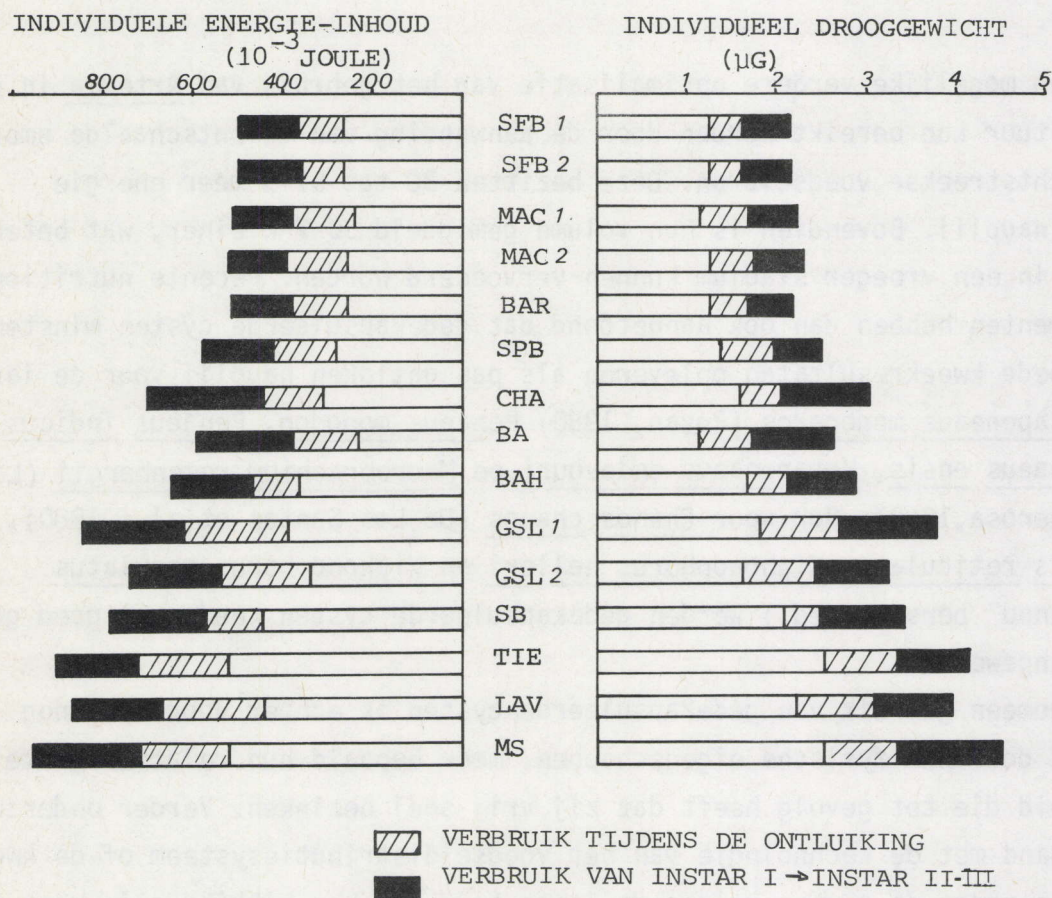


Fig.35. Het verbruik van drooggewicht en energie gedurende de ontluijing en de vroege larvale ontwikkeling der nauplii van diverse geografische oorsprong

minstens 24 h. Dit kan leiden tot een halvering van de werkzaamheden met betrekking tot het produceren van de nauplii.

Het erfelijk karakter van de biometrische kenmerken der cysten stelt ons in staat om uitgaande van de afmetingen met vrij grote zekerheid de afkomst van een cystenmonster te bepalen. Bovendien beschikken wij aldus over de mogelijkheid eventuele valse identifikaties van cystenmonsters of menging van cystenmonsters te achterhalen. Dit zijn fenomenen die zich thans uit commerciële overwegingen steeds frekwenter voordoen. Recent konden wij ondermeer vaststellen dat de cystenmonsters van Eilat en Margherita di Savoia uit minstens 2 populaties bestonden. Dit laat veronderstellen dat cysten van een andere geografische oorsprong (wellicht San Francisco Bay) geïntroduceerd waren in deze biotopen. Gezien de verschillen in nutritionele waarde van de diverse Artemia-rassen (zie hoofdstuk 13) is de detektie van dergelijke praktijken zeer belangrijk.

De zeer significante positieve korrelaties tussen de biometrische kenmerken der cysten en nauplii biedt tenslotte nog de mogelijkheid om het verder karakterisatie-onderzoek van Artemia-rassen te vereenvoudigen. Zo kan uitgaande van de cystenafmetingen, die volgens de uitgewerkte procedure snel en nauwkeurig te meten zijn, vrij nauwkeurig de afmetingen en het gewicht der nauplii bepaald worden.

HOOFDSTUK 8. ONTLUIKINGSKARAKTERISTIEKEN DER CYSTEN

8.1. Inleiding.

De ontluikingskarakteristieken van de cysten zijn belangrijke parameters voor de evaluatie van de waarde van cystenmonsters voor gebruik in de aquakultuur. Hierbij is vooral de ontluikbaarheid der cysten van belang daar deze parameter rechtstreeks de kwantiteit beschikbare nauplii bepaald die ter beschikking staat voor de voeding van aquakultuurorganismen. In dit licht werden dan ook criteria ontwikkeld om de ontluikbaarheid van de cysten te evalueren. Tot voor enkele jaren werd de ontluikingskwaliteit van Artemia-cysten praktisch uitsluitend uitgedrukt als ontluikingspercentage ; dit is het aantal levende nauplii die kunnen geproduceerd worden uit 100 cysten. Dit criterium houdt echter heel wat beperkingen in. Er wordt immers geen rekening gehouden met de onzuiverheden van het cystenmateriaal, zoals lege cysten, zand, stukjes hout, pluimpjes enz. Sorgeloos (1979b) stipte terecht aan dat een cystenmonster een ontluikingspercentage van 90 % kan opleveren, doch 80 % onzuiverheden bevatten naast slechts 20 % volle cysten. Anderzijds kan een cystenmonster dat een ontluikingspercentage van "slechts" 60 % oplevert, 90 % volle cysten bevatten. Hoewel het ontluikingspercentage een goed idee verstrekt omtrent de leefbaarheid der volle cysten is het dus ontoereikend voor de vergelijking van de kwaliteit van cystenmonsters. Dit is zeker het geval voor de monsters van diverse geografische oorsprong of gekommercialiseerd door verschillende verdelers, die in vele gevallen op een verschillende manier geoogst, verwerkt en gestockeerd worden (zie Hoofdstuk 4.3.4).

Vooraf in het licht van de verruimde keuzemogelijkheden tussen meerdere Artemia-rassen werd in 1978 het ontluikingsrendement als een meer reëel criterium voorgesteld (Sorgeloos et al., 1978a). Het ontluikingsrendement wordt uitgedrukt als het aantal nauplii geproduceerd uit 1 g cystenmateriaal of anders uitgedrukt de gewichtshoeveelheid cysten vereist voor de produktie van 1 miljoen nauplii. Dit criterium vormt reeds een goede vergelijkingsbasis voor de evaluatie van de ontluikingskwaliteit, waarbij zowel de zuiverheidsgraad van het cystenmonster als de levensvatbaarheid der cysten in acht genomen worden. Voor de beperkingen en de mogelijke verfijning van dit criterium verwijzen wij naar hoofdstuk 8.6.1.

Naast de ontluikbaarheid der cysten is ook hun ontluikingsnelheid een niet onbelangrijke parameter bij de evaluatie van de ontluikingskwaliteit.

De ontluikingssnelheid, dit is het criterium dat een aanduiding geeft omtrent de tijdspanne tussen de inkubatie der cysten en het verschijnen der nauplii, laat toe het optimale tijdstip vast te leggen waarbij zoveel mogelijk larven kunnen geoogst worden met de hoogst mogelijke energie-inhoud (zie Hoofdstuk 7.4.). Bovendien is de kennis van de ontluikingssnelheid van belang voor standaardisatiedoelinden voor fundamenteel onderzoek, bvb. toxiciteitsstudies (Sorgeloos et al., 1978b ; Vanhaecke et al., 1980).

Ondanks het belang van de ontluikingskarakteristieken voor de aquakultuur zijn de literatuurgegevens in dit verband voor de diverse Artemia-rassen vrij beperkt. Verschillen tussen Artemia-rassen werden reeds vastgesteld door D'Agostino (1965), Sorgeloos en Persoone (1975), Person Le Ruyet en Salaun (1977) en Smith et al. (1978). Uit de gegevens van Smith et al. (1978) bleek zelfs dat variaties in ontluikbaarheid en ontluikingssnelheid tussen diverse monsters van eenzelfde ras mogelijk zijn.

Vanuit dit oogpunt en in het licht van het belang van de ontluikingskarakteristieken der cysten voor aquakultuurtoepassingen werd in de eerste plaats een vergelijkende studie gemaakt tussen de verschillende rassen. In aansluiting daarmee werd nagegaan in hoeverre deze karakteristieken rasgebonden zijn en werd gepoogd een inzicht te verwerven in de factoren die de ontluikingskwaliteit der cysten beïnvloeden. Daarenboven werd de nodige aandacht geschonken aan technieken die de ontluikbaarheid der cysten kunnen verhogen en aldus leiden tot een besparing op het cystenverbruik.

8.2. Materiaal en methoden

Voor de bepaling van het ontluikingspercentage werd steeds ongeveer 1 g cystenmateriaal gezuiverd volgens de methode van Sorgeloos et al. (1978a, zie Hoofdstuk 4.3.4). De verzamelde volle cysten werden in een cilindrokonische buis gebracht, voorzien van luchtdoorborreling. Met een mikropipet werden 10 monsters genomen, elk bevattend 100 à 150 cysten. Het exakt aantal cysten werd geteld op een filtreerpapiertje onder een dissektiemikroskoop. Vervolgens werden de cysten overgespoeld in glazen petriplaatjes, gevuld met 10 ml zeewater. Tenzij anders vermeld, vond de inkubatie plaats in vooraf geëereerd artificieel zeewater (35 ‰) bij 25°C en 1000 lux. 48 h na de inkubatie werd de inhoud van elk petriplaatje gefixeerd met enkele druppels lugol-oplossing (Sorgeloos, 1975) en werden de ontloken nauplii geteld onder een dissektiemikroskoop. Het ontluikingspercentage werd berekend volgens de formule :

$$\frac{\text{aantal nauplii}}{\text{aantal cysten}} \times 100$$

Aan de hand van de resultaten van de 10 parallellen werd het gemiddeld ontluikingspercentage evenals de standaarddeviatie berekend.

De variante op deze methode die aangewend werd bij het onderzoek naar de invloed van de temperatuur op de ontluikbaarheid der cysten, is in het desbetreffend kapittel beschreven (zie Hoofdstuk 8.4.2.).

Het ontluikingsrendement werd, op een paar kleine modifikaties na, bepaald volgens de methode beschreven door Sorgeloos et al. (1978a). Per cystenmonster werden 3 stalen van 250 mg gehydrateerd in 80 ml zeewater (saliniteit 35 ‰, temperatuur 25°C) in een cilindrokonische buis voorzien van continue beluchting. Na ongeveer 1 h hydratatie werd het watervolume op 100 ml gebracht. Onmiddellijk daarop werden met een automatisch mikropipet uit iedere buis 10 monsters van 250 µl genomen en overgebracht in 10 plastieken buisjes waarin 4 ml zeewater gebracht was. De buisjes werden afgesloten en op een roterende as geplaatst (5 toeren per min). Na 48 h inkubatie bij 25°C en een lichtintensiteit van minimum 1000 lux werd de inhoud van elk buisje gefixeerd met enkele druppels lugol-oplossing. Het aantal nauplii van ieder buisje werd onder een dissektiemikroskoop geteld in een petriplaatje met gekwadrilleerde bodem. Het aantal nauplii geproduceerd uitgaande van 1 g cystenmateriaal werd berekend met de formule :

$$\frac{n_1 + n_2 + \dots + n_{10}}{10} \times 4 \times 100 \times 4$$

waarbij $n_1 \dots n_{10}$: het aantal nauplii van deelmonster 1 ... 10.

Uitgaande van de resultaten van de 3 parallellen werd dan het gemiddeld ontluikingsrendement bepaald.

Voor de bepaling van de ontluikingssnelheid werden, tenzij anders vermeld, voor elk ras 2 monsters van 250 mg genomen en gehydrateerd in cilindrokonische buizen in 100 ml natuurlijk zeewater van 35 ‰ bij 25°C en 1000 lux. De cysten werden in suspensie gehouden door kontinu aëratie van op de bodem. De aëratie was zo geregeld dat het zuurstofgehalte gedurende de proef niet onder 4 mg O₂ per liter daalde en zo weinig mogelijk cysten afgeschuimd werden. Om de verdamping (die vooraf nagegaan werd), te compenseren werd vanaf de start van monsternamen, om de 3 uur de nodige hoeveelheid zeewater toegevoegd (0.5 - 1 ml).

Om het uur werden uit elke buis 4 monsters van 250 µl genomen met een automatisch mikropipet. De monsternamen werden beëindigd op het ogenblik dat de ontluiking volledig was ; om deze waarde te kennen werd vooraf het ontlui-

kingsrendement bepaald. De ontluiking werd dan als beëindigd beschouwd op het ogenblik dat ofwel het maximale ontluikingsrendement bereikt werd of -wanneer door lichte afschuiming deze waarde niet bekomen werd - de waarden van de laatste 3 monsters niet meer significant gestegen waren.

Het gemiddelde van de 8 waarnemingen per uur werd uitgedrukt in % van het maximaal aantal nauplii dat kon ontluiken voor ieder ras.

Ten einde het verloop van de ontluiking grafisch voor te stellen werd de kromme berekend die best geschikt was voor de weergave van het verloop van de n waarnemingen in de tijd. Daartoe werd de beste geschikte graad van de kromme nagegaan gebruik makend van de variantie-analyse op de niet lineaire regressie. Als modelkromme krijgen we :

$$Y = a + b_1X + b_2X^2 + b_3X^3 + b_4X^4 + e.$$

Tabel XXXIV. geeft de variantie-analyse voor de verschillende aanpassingen. Hierbij worden SSTot, SSR₁ en SSE₁ gegeven door :

$$SSTot = \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}$$

$$SSR_1 = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{n}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

$$SSE_1 = SSTot - SSR_1$$

Nadat de verschillende krommen berekend waren met de methode van de orthogonale veeltermen (volgens programma op Hewlett-Packard-97), konden de waarden van de procentuele ontluiking op de tijdstippen i...p van de 2de.-, 3de.- en 4de.- graadsvergelijking bepaald worden. De som van de kwadraten van de afwijking SSE₂, SSE₃ en SSE₄ werden dan berekend met de formules :

$$SSE_2 = \sum p_i (Y_w - Y_2)^2$$

$$SSE_3 = \sum p_i (Y_w - Y_3)^2$$

$$SSE_4 = \sum p_i (Y_w - Y_4)^2$$

waarbij Y_w = de waargenomen waarde

Y_2, Y_3, Y_4 = de berekende waarde uitgaande van een 2de.-, 3de.- en 4de.- graadsvergelijking.

Tabel XXXIV. Tabel van variantie-analyse

Oorsprong	Vrijheids- graden	Kwadratensom	Gemidd. Kwadr.
Lineaire regressie	1	SSR_1	SSR_1
Afwijking t.o.v. de lineaire regressie	n-2	SSE_1	$\frac{SSE_1}{n-2}$
Bijkomende reductie te wij- ten aan regressie v.d. 2de. graad	1	SSR_2	SSR_2
Afwijking t.o.v. de regres- sie van de tweede graad	n-3	SSE_2	$\frac{SSE_2}{n-3}$
Bijkomende reductie te wij- ten aan regressie van de 3de. graad	1	SSR_3	SSR_3
Afwijking t.o.v. de regres- sie van de derde graad	n-4	SSE_3	$\frac{SSE_3}{n-4}$
Bijkomende reductie te wij- ten aan regressie van de 4de. graad	1	SSR_4	SSR_4
Afwijking t.o.v. de regres- sie van de vierde graad	n-5	SSE_4	$\frac{SSE_4}{n-5}$
Totaal	n-1	$SSTot$	

De bijkomende reducties te wijten aan de regressie van de 2de., 3de., en 4de. graad worden dan gegeven door :

$$SSR_2 = SSE_2 - SSE_1$$

$$SSR_3 = SSE_3 - SSE_2$$

$$SSR_4 = SSE_4 - SSE_3$$

De significantie op het 0,05-niveau van elke bijkomende reductie werd nagegaan door de verhouding van de gemiddelde kwadraten van elke aanpassing te vergelijken met $F_{0,05; 1; n-2}$ voor de 1ste. graadsvergelijking, $F_{0,05; 1; n-3}$ voor de 2de. graadsvergelijking, enz. in de Fischer-tabel. Wanneer de bijkomende reductie te wijten aan de aanpassing door een kromme van een bepaalde graad niet significant blijkt, kunnen de waarnemingen aangepast worden door een kromme van een lagere graad.

Uitgaande van de ontluikingskurve werden grafisch de volgende tijdspannes, vanaf de inkubatie, bepaald :

T_0 = tijdspanne tot het verschijnen van de eerste nauplii

T_{50} = tijdspanne waarbij 50 % der nauplii tot ontluiking gekomen zijn

T_{90} = tijdspanne waarbij 90 % der nauplii tot ontluiking gekomen zijn

$T_s = T_{90} - T_{10}$ = de tijdspanne gelegen tussen de tijdstippen waarbij respectievelijk 90 % en 10 % der nauplii te voorschijn gekomen zijn ; maat voor de synchronie van de ontluiking.

8.3. Het ontluikingsrendement

8.3.1. Het ontluikingsrendement van cysten van diverse geografische rassen en verschillende monsters van dezelfde geografische oorsprong.

Uit Tabel XXXV, waarin de ontluikingsrendementen van diverse Artemia-cystenmonsters samengevat zijn, blijkt duidelijk dat aanzienlijke verschillen voorkomen tussen de diverse geografische rassen van het pekelkreeftje. Terwijl slechts 3,7 à 4 g cystenmateriaal van San Francisco Bay vereist is voor de produktie van 1 miljoen nauplii zijn respectievelijk 19,5 en 36,8 g cysten afkomstig van Manaure en Kutch vandoen om tot eenzelfde aantal nauplii te komen. Deze vaststellingen bevestigen dus de resultaten bekomen door de auteurs vermeld in de inleiding van dit hoofdstuk.

Tabel XXXV. Het ontluikingsrendement van diverse Artemia-cystenmonsters

Geografische oorsprong	Gemiddeld ontluikings- rendement (nauplii/ g cysten)	Standaarddevia- tie (nauplii / g cysten)
San Francisco Bay (288-2596)	267200	8300
(288-2606)	259200	6500
(236-2016)	249600	9900
Macau (mei 1978)	297600	7800
(871172)	304000	9100
(872112)	297600	11200
(87500)	182400	6400
(971050)	299200	5200
(971051)	248000	10800
(082022)	197900	9700
Barotac Nuevo	214000	9200
Mundra	236800	9600
San Pablo Bay	259200	8700
Great Salt Lake (1966)	106000	6300
(1974)	18000	2400
(1977)	126000	7800
(185-1979)	192000	8200
Chaplin Lake (1978)	8000	1100
(1979)	65600	4200
Bahia salinas	112000	6400
Buenos Aires (1977)	193600	10700
(1979)	65900	5500
Port Araya	73600	5900
Mono Lake	6400	1200
Manaure	51200	4300
Galera Zamba	81600	7900
Larnaca	184400	8400
Eilat	118400	6700
Izmir	147200	6200
Kutch	27200	3100
Shark Bay	217600	8900
Tientsin	129600	7000
Lavalduc	182400	6400
Margherita di Savoia	137600	6000
Tuticorin	116800	7200

Het is echter duidelijk dat ook binnen eenzelfde Artemia-ras het ontlui-
kingsrendement in ruime mate verschilt van monster tot monster. Een statis-
tische analyse van de resultaten (t-testen) liet inderdaad toe onderlinge
signifikante verschillen te detekteren tussen de monsters van Macau, Great
Salt Lake, Chaplin Lake en Buenos Aires (zie Fig. 36). Zo varieert de gewichts-
hoeveelheid cysten voor de produktie van 1 miljoen nauplii tussen 5,2 en 55,6
g voor cystenmateriaal van Great Salt Lake en voor Chaplin Lake-cystenmonsters
tussen 15,2 en 125 g. Zowel tussen cystenmonsters geoogst gedurende verschil-
lende perioden van het jaar (Macau) als tussen monsters geoogst over verschil-
lende jaren (Great Salt Lake, Buenos Aires) konden verschillen genoteerd worden.
Bovendien komen significante verschillen voor tussen de cysten geproduceerd
in Barotac Nuevo en Mundra en de parentale San Francisco Bay (288-2596) cysten.

Het geheel van deze vaststellingen laat toe te konkluderen dat het ontlui-
kingsrendement niet rasspecifiek is en dus geen mogelijkheid biedt om de
geografische rassen van Artemia te karakteriseren. Dit kon echter verwacht wor-
den daar dit criterium niet alleen door de ontluikbaarheid der cysten, doch
ook door de zuiverheidsgraad van het monster bepaald wordt. Dit betekent dat
de mate waarin het cystenmateriaal voor de verpakking gezuiverd werd een
direkte weerslag heeft op het ontluiingsrendement.

Bij een vergelijking van de ontluiingspercentages van gezuiverde cystenmonsters
blijkt echter ook deze parameter te variëren van ras tot ras, tussen monsters van
eenzelfde ras en tussen rassen ontstaan na inokulatie met hetzelfde parentaal
materiaal (Tabel XXXV). Signifikante verschillen ($\alpha = 0,05$) konden inderdaad
genoteerd worden tussen de monsters van Macau, Great Salt Lake en Chaplin Lake
onderling, evenals tussen San Francisco Bay-cysten en Macau- en Barotac Nuevo-
monsters.

De verschillen in ontluiingsrendement zijn dus zowel te wijten aan de variaties
in ontluikbaarheid der volle cysten als aan de graad van zuiverheid van het
cystenmateriaal. Bijgevolg is het ontluiingsrendement der cysten geenszins
een rasspecifiek kenmerk.

Tenslotte valt bij een vergelijking van de ontluiingspercentages (Tabel
XXXVI) met de ontluiingsrendementen (Tabel XXXV) van de diverse geografische
rassen op dat een laag ontluiingsrendement niet noodzakelijk gebonden is aan
een laag ontluiingspercentage. Zo hebben de cysten van Galera Zamba een
ontluiingspercentage van ruim 80% terwijl hun ontluiingsrendement slechts
81600 nauplii per g cysten bedraagt. De cysten van dit ras zijn dus in feite
evenwaardig aan deze van Macau doch de minder goede zuivering maakt ze kommer-
cieel gezien minder interessant.

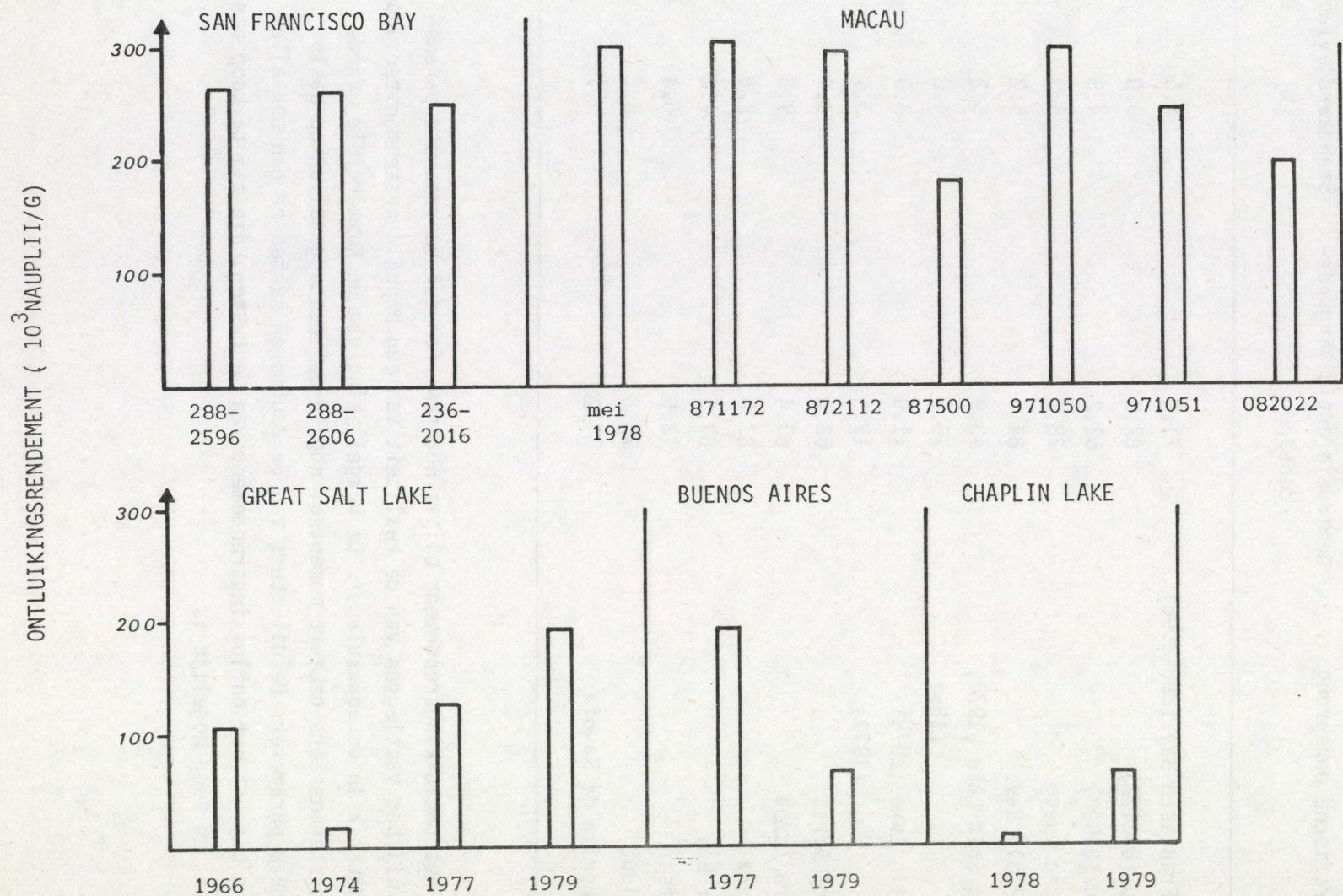


Fig.36. Het ontluikingsrendement van verschillende cystemonsters van enkele Artemia-rassen

Tabel XXXVI. Het ontluikingspercentage van diverse Artemia-cystenmonsters.

Geografische oorsprong	Gemiddeld ontluikingspercentage	Standaarddeviatie (%)
San Francisco Bay (288-2596)	71.4	4.5
Macau (871172)	82.0	9.0
Macau (87500)	62.2	4.8
Barotac Nuevo	78.0	5.3
San Pablo Bay	84.3	5.2
Great Salt Lake (1977)	43.9	5.2
(185)	79.6	4.8
Chaplin Lake (1978)	11.9	3.0
(1979)	19.5	3.1
Buenos Aires	62.8	3.9
Galera Zamba	80.4	9.3
Larnaca	87.0	2.8
Shark Bay	87.5	4.8
Tientsin	73.5	6.4
Lavalduc	75.8	6.2
Margherita di Savoia	77.2	4.7

Het ontluikingsrendement blijft nochtans één der voornaamste parameters bij het vastleggen van de kwaliteit van een bepaald cystenmonster voor het gebruik in de aquakultuur. De vergelijking van de commerciële waarde van cystenmonsters gebeurt momenteel nog in de meeste gevallen op basis van deze parameter. De uitbaters van de zoutmeren hebben er dan ook alle belang bij dat het ontluikingsrendement van de cysten, die zij te koop aanbieden, zo hoog mogelijk is.

Mede in het kader van deze problematiek werd nagegaan welke factoren kunnen verantwoordelijk zijn voor de vastgestelde verschillen tussen de diverse monsters.

8.3.2. De invloed van de oogst-, verwerkings- en bewaringstechnieken op het ontluikingsrendement der cysten

Zoals uit hoofdstuk 4.3.4. gebleken is, variëren de oogstmogelijkheden en de oogstmethoden van de ene lokaliteit tot de andere. In vele gevallen blijven de cysten, die slechts op onregelmatige tijdstippen geoogst worden, gedurende een hele tijd op de oevers liggen vooraleer ze verzameld worden (Sorgeloos, 1979b). Het is gebleken dat wanneer deze cysten lange tijd blootstaan aan periodische hydratatie - (bvb. door regen of dauw) dehydratatie - (bvb. door de zon) cycli, hun energiereserves kunnen aangetast worden (Rakowicz, 1975). Repetitieve cycli kunnen zelfs leiden tot een vermindering van de ontluikbaarheid der cysten (Sorgeloos et al., 1976) ; Benijts et al., 1977). Ook de blootstelling van gehydrateerde cysten aan temperaturen hoger dan 40°C, wat in de volle zon in tropische en subtropische gebieden erg waarschijnlijk is, kan een daling van het ontluikingspercentage tot gevolg hebben (Voronov, 1974). Het is dus duidelijk dat de toegepaste oogstmethode, alsook de oogstfrequentie kan leiden tot verschillen in ontluikingsrendement. De verschillende klimatologische kondities op de diverse lokaliteiten of in de loop van het jaar kunnen op die manier zowel tussen de Artemia-rassen als tussen de monsters van eenzelfde ras verschillen doen ontstaan. Op basis van deze vaststellingen kunnen wij dan ook instemmen met Rakowicz (1975) en Sorgeloos et al., (1976) dat de cysten bij voorkeur rechtstreeks van het wateroppervlak afgeoogst worden of op regelmatige tijdstippen zo snel mogelijk na het aanspoelen verzameld worden.

Na de oogst dienen de cysten gezuiverd en gedroogd te worden. Het belang van een efficiënte verwijdering van allerlei onzuiverheden spreekt voor zichzelf. De thans aangewende zuiveringstechnieken zijn besproken in hoofdstuk 4.3.4.

Voor wat de invloed van de droogtechniek op de ontluikbaarheid der cysten betreft, is momenteel slechts weinig bekend. De droogtemperatuur mag de 40°C niet overschrijden (Voronov, 1974). Het vochtgehalte der cysten na de droging dient lager te zijn dan 10 %, zoniet kan een langzame vermindering van de ATP-koncentratie vastgesteld worden (Clegg en Cavagnaro, 1976) en gaat het ontluikingsrendement progressief dalen. In dit verband werden diverse droogtechnieken uitgetest, enerzijds om de mogelijke invloed van de droging op het

ontluikingsrendement te kwantificeren en anderzijds om de meest geschikte methode vast te leggen voor het behoud van een optimale ontluiking.

Daartoe werden 5 deelmonsters van een homogeen lot cysten van Lavalduc, geoogst in de zomer van 1979 en bewaard in verzadigde pekels, na zuivering (zie Hoofdstuk 4.3.4), gedroogd onder de volgende kondities :

- "fluidized bed"-droger bij 35-40°C (droogtijd 2 h)
- droogoven bij 30°C : laagdikte 1,5 cm
laagdikte 0,5 cm
- droogoven bij 38°C : laagdikte 1,5 cm
laagdikte 0,5 cm
- droogoven bij 42°C : laagdikte 1,5 cm

Voor elke behandeling werd 20 g cystenmateriaal gebruikt. De cysten werden vooraf gedurende enkele minuten gespoeld in koud (4°C) leidingwater en het overtollige vocht werd verwijderd met filtreerpapier. Gedurende de droging in de droogstoof werd om de 24 h het vochtgehalte gecontroleerd. De ontluikingsresultaten zijn samengevat in Tabel XXXVII.

Tabel XXXVII. De invloed van de droogmethode op het ontluikingsrendement der cysten

Methode	Droogkondities		Ontluikingsrendement (nauplii/g cysten)	
	Temperatuur (°C)	Laagdikte (cm)	\bar{x}	s
Droogoven:	30	1.5	69120	9760
	30	0.5	149600	10240
	38	1.5	150880	7200
	38	0.5	181360	9600
	42	0.5	168800	5600
"Fluidized-bed"-droger	35-40		182400	6400
Kontrole (onbehandelde cysten)			178640	8840

Uit de bekomen gegevens kunnen we afleiden dat :

- in een droogoven zowel de laagdikte der cysten als de temperatuur het ontluikingsrendement beïnvloedt ;
- onafhankelijk van de laagdikte een temperatuur van 38°C de beste resultaten oplevert ;
- onafhankelijk van de temperatuur een laagdikte van 0,5 cm een betere ontluiking garandeert dan een laagdikte van 1,5 cm ;
- het ontluikingsrendement na drogen in een "fluidized bed" droger maximaal blijft .

De lagere ontluikingscijfers bij 42°C zijn wellicht toe te schrijven aan het lethaleffekt van deze temperatuur op een gedeelte van de embryo's, die gehydrateerd waren bij start der droging. Bij de lagere temperaturen zijn de verschillen in ontluikingsrendement te korreleren met de verschillen in snelheid van vochtverwijdering der cysten. Zo bedroeg bij 30°C/1,5 cm het vochtgehalte der cysten na 48 h nog steeds 40 % en duurde het meer dan 96 h vooraleer het vochtgehalte onder de 10 % gedaald was. Bij de combinatie 38°C/1,5 cm bedroeg het vochtgehalte na 48 h 12 %, terwijl bij 38°C/0,5 cm het vochtgehalte na 24 h reeds gedaald was tot 4 %. Zowel bij een grote laagdikte als bij een te lage temperatuur daalt het vochtgehalte der embryo's blijkbaar te langzaam, zodat de cysten gedurende een te lange periode metabolisch actief blijven. Clegg (1976b) en Clegg en Cavagnaro (1976) toonden immers aan dat de metabolische activiteit der cysten die leidt tot "breaking" en "emergence" doorgaat vanaf een vochtgehalte van 65 %. Bij de minst gunstige drogingsomstandigheden was de ontwikkeling van een gedeelte der cysten reeds in die mate gevorderd, dat een verdere dehydratatie niet leidde tot een reversiebele onderbreking van het cystenmetabolisme (Morris, 1971) maar tot de dood van de embryo's. In de "fluidized bed"-droger, waarbij de cysten door een continue luchtstroom als het ware in suspensie gehouden worden, geschiedt de droging zeer snel en gelijkmatig. Na 2 h drogen was het vochtgehalte gedaald tot minder dan 10 %. Vooral wanneer grote kwantiteiten cysten dienen gedroogd te worden is de "fluidized bed" droogtechniek het betere alternatief. Er dient trouwens geen rekening gehouden te worden met de laagdikte of de luchtverversing.

Na het drogen kunnen de cysten gestockeerd worden en gedurende jaren bewaard worden zonder hun leefbaarheid te verliezen. Rakowicz (1975) rapporteerde echter dat cysten gestockeerd in droge lucht slechts 3 à 4 jaar levensvatbaar blijven, terwijl na stockering onder vacuüm of stikstof hun leefbaarheid na 10 jaar nog steeds maximaal bleef. Ten einde de mogelijke invloed van verschillende traditionele bewaringsmethoden op het ontluikingsrendement te evalueren, werden deelmonsters van een lot San Francisco Bay-

cysten (monster nr. 288-2596) en van een lot Macau-cysten (monster nr. 971051) gestockeerd onder vakuum, lucht, stikstof, zuurstof en in gesatureerde NaCl-pekel voor perioden van 1 à 2 jaar.

Uit de ontluikingsresultaten, samengevat in Tabel XXXVIII blijkt dat, in overeenstemming met de bevindingen van Rakowicz (1975), de bewaring onder vakuum of stikstof de beste resultaten oplevert (zie ook Dempster en Hanna, 1956 ; Clegg 1962, 1967). In geen enkel geval kon een significante wijziging van de ontluikbaarheid genoteerd worden. De overige stockeringsmethoden resulteerden alle in een significante daling van het ontluikingsrendement. Volgens Clegg (1962) is deze daling niet energetisch gebonden. Uit zijn studies bleek immers dat de "metabolic dormancy" van de cysten compleet is. Volgens Crowe (1971) en Crowe en Clegg (1973) zou de daling van de ontluikbaarheid in een zuurstofhoudend milieu te wijten zijn aan de gevoeligheid der cysten aan vrije radicalen welke die in dergelijk milieu gevormd worden. Vandaar dan ook de grotere afname van de ontluikbaarheid na bewaring onder zuurstof ten opzichte van lucht.

Tabel XXXVIII. De invloed van de stockeringskondities op de ontluikbaarheid¹ van Artemia-cysten van 2 lokaliteiten.

Stockeringskondities	San Francisco Bay (1 jaar stockering)	Macau (2 jaar stockering)
Zuurstof	70	56
Lucht	-	83
Stikstof	101	91
Vacuum	100	98
Pekel 20°C	66	74
-20°C	76	-

¹uitgedrukt in % van de resultaten bekomen met het oorspronkelijk monster

De daling van het ontluikingsrendement in de pekeloplossing is toe te schrijven aan de onvolledige ontwatering van de cysten in dergelijk milieu. Clegg (1978) toonde aan dat verzadigde NaCl-pekel een watergehalte van ongeveer 20 % bezit. Clegg en Cavagnaro (1976) stelden indicaties van enzymale activiteit en een langzame doch significante daling van de ATP-koncentratie vast bij

watergehalten van 10-35 %, die tenslotte resulteert in het afsterven van het embryo. Naarmate de stockeringstemperatuur daalt zijn de metabolische processen vertraagd, wat meteen de geringere afname van het ontluikingsrendement verklaart.

In ieder geval is het duidelijk dat het ontluikingsrendement belangrijke wijzigingen kan ondergaan wanneer de cysten niet onder optimale kondities gestockeerd worden. De bekomen gegevens laten echter niet toe te bepalen of de achteruitgang van de levensvatbaarheid varieert tussen de diverse Artemia-rassen. Dergelijke variaties zijn niet onwaarschijnlijk gelet op de verschillen in hydratatiesnelheid der droge cysten (D'Agostino, 1965) en de verschillen in graad van energie-uitputting ten gevolge van de variaties in oogst- en verwerkingstechnieken der cysten van diverse oorsprong. Bovendien kan naar analogie met de gevoeligheid voor toxische stoffen (Sorgeloos et al., 1978b ; Vanhaecke et al., 1980) wellicht ook de gevoeligheid voor vrije radicalen verschillen van ras tot ras. Verder onderzoek in deze richting kan eventueel leiden tot de selectie van rassen die hun leefbaarheid ook onder minder goede kondities relatief lang bewaren of verdere aanduidingen geven omtrent het belang van de voorbehandeling der cysten.

Uit het geheel der vaststellingen in verband met het ontluikingsrendement van cysten van verschillende geografische oorsprong en de variaties die de ontluikbaarheid kan ondergaan, kunnen alvast de volgende besluiten geformuleerd worden :

- noch het ontluikingsrendement, noch het ontluikingspercentage zijn ras-specifiek en zijn niet gekorreleerd met genotypische kenmerken ;
- het ontluikingsrendement wordt grotendeels bepaald door de voorgeschiedenis der cysten :
 - de oogsttechnieken
 - de mate waarin de cysten gezuiverd worden
 - de droogmethoden
 - de bewaringskondities
- een oordeelkundige oogst en verwerking van de cysten kan de kwaliteit van het eindprodukt aanzienlijk verbeteren ;
- de stockering onder geschikte kondities kan de kwaliteit van de cysten gedurende lange tijd optimaal houden.

8.3.3. Het drogen en stockeren van gedekapsuleerde cysten

De ontwikkeling van de dekapsulatietechniek van Artemia-cysten (Sorgeloos et al., 1977 ; Bruggeman et al., 1979, 1980) betekende een belangrijke stap vooruit bij de optimalisatie van het gebruik van Artemia in de aquakultuur (zie overzicht in Bruggeman et al., 1980). Het enige probleem dat hierbij nog om een oplossing vraagt is de doelmatige stockering der cysten. De thans geldende bewaringsmethode in een verzadigde NaCl-oplossing blijkt immers niet optimaal te zijn. Enerzijds valt het transport van dergelijke cysten kostelijk uit en anderzijds daalt de leefbaarheid der embryo's vrij snel (Bruggeman et al., 1980).

Om die reden hebben wij de mogelijkheid onderzocht gedekapsuleerde Artemia-cysten te drogen en werd de invloed van diverse stockeringsmethoden op de ontlukbaarheid bestudeerd.

8.3.3.1. Het drogen van gedekapsuleerde cysten

Voor elke behandeling werden 25 à 50 g cysten gedekapsuleerd. De dekapsulatie werd steeds uitgevoerd volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.5. Vervolgens werden de cysten gedehydrateerd in verzadigde NaCl-pekkel.

In eerste instantie werd de klassieke droogmethode in een droogoven (38°C) uitgetest. Daartoe werden de gedekapsuleerde cysten op een zeef van 110 µm gebracht en gespoeld met leidingwater. Het overtollig vocht werd verwijderd met behulp van filtreerpapier. Na een droogperiode van 48 uur werd het ontlukingspercentage nagegaan. De ontlukbaarheid der cysten bleek praktisch nihil te zijn. Dit is wellicht grotendeels te wijten aan het feit dat de cysten in grote groepen aaneenkitten en niet meer van elkaar kunnen gescheiden worden. Bovendien behouden de cysten bij droging in een droogoven een relatief lange tijd een hoog vochtgehalte, zodat het cystenmetabolisme kan starten (Clegg, 1976b) en het embryo tenslotte afsterft.

Gezien deze negatieve resultaten bij gebruik van een droogoven en gezien het feit dat droging in een "fluidized bed"-droger voor niet behandelde cysten zeer gunstige resultaten opleverde, werd deze droogtechniek beproefd voor gedekapsuleerde cysten. In een "fluidized bed"-droger worden de cysten door een continue luchtstroom als het ware in suspensie gehouden zodat kan verwacht worden dat het aaneenkitten der cysten minimaal zal zijn. Om het aaneenkleven der cysten verder te minimaliseren werden ze vóór de droging met een borsteltje door een zeef van 750 µm gebracht. De droogtemperatuur bedroeg 30°C. De ontlukingsresultaten zijn samengevat in Tabel XXXIX.

Tabel XXXIX. Ontluikingsresultaten van gedekapsuleerde cysten die na spoeling gedroogd werden in een "fluidized bed"-droger.

Behandeling	Gemiddelde ontluiking (%)	s (%)	% verschil t.o.v. referentie
Na dekapsulatie	84,0	3,4	
Na spoelen en door zeef	82,2	3,9	- 2,1
"Fluidized bed"-droger (20 min)	44,4	3,9	- 47,1
"Fluidized bed"-droger (2 h)	4,2	2,1	- 85,0

Het gebruik van een zeefje bleek het ontluikingspercentage niet negatief te beïnvloeden. De droging veroorzaakte echter wel een duidelijke daling van de ontluikbaarheid der cysten. Ofschoon het vochtgehalte reeds na 20 min. lager dan 10 % was, is de toegepaste methode niet bruikbaar. De cysten bleven bovendien nog steeds, zij het in kleinere groepjes aan elkaar kleven.

Om dit aaneenkitten der cysten te voorkomen, werd uitgekeken naar oplosmiddelen die het inter-cyst water kunnen substitueren.

Aceton en propanol die een hoge solvatiekracht en polariteit bezitten, werden hiervoor geselecteerd. Deze oplosmiddelen gaan tevens gemakkelijker vervluchtigen dan water en kunnen dus de tijd nodig om een voldoende droging te bekomen, inkorten.

In een eerste fase werd de invloed van het gebruik van aceton nagegaan op de ontluikbaarheid der cysten. Gedehydrateerde gedekapsuleerde cysten werden rechtstreeks of na spoeling met leidingwater gedurende verschillende tijdspannes blootgesteld aan aceton. Daarna werden ze na spoeling geïnkubeerd. De ontluikingsresultaten zijn samengevat in Tabel XL. Om een gemakkelijk vergelijk mogelijk te maken, werden de resultaten weergegeven in % t.o.v. het controlemonster.

De behandeling met aceton heeft steeds een significante daling van de ontluikbaarheid tot gevolg. Deze daling nam aanvankelijk toe naarmate de kontaktduur steeg van 10 tot 15 sec. Een verdere stijging van de kontaktduur had blijkbaar geen bijkomend negatief effect. De koeling van het spoelwater en de aceton evenals het rechtstreeks gebruik van aceton zonder voorafgaande spoeling leverde duidelijk gunstiger resultaten op.

Tabel XL. De invloed van aceton op de ontluikbaarheid van gedekapsuleerde cysten.

Behandeling	% ontluiking t.o.v. de controle
Water + aceton (10 sec)	92*
Water + aceton (15 sec)	76**
Water + aceton (30 sec)	69**
Water + aceton (60 sec)	76**
Water + aceton (240 sec)	70**
Gekoeld water (0°C) - gekoelde aceton (-12°C) (30 sec)	92*
Aceton(15 sec)	90**
Aceton(45 sec)	86**

*/** signifikante daling op het * 0,05 -niveau of ** 0,01-niveau

De verminderde leefbaarheid der embryo's leek aanvankelijk tegenstrijdig met diverse literatuurgegevens. Tazawi en Iwanami (1974), Iwanami et al. (1975) en Smith en Siegel (1975) toonden immers aan dat de leefbaarheid van Artemia-cysten niet veranderde bij blootstelling aan een ganse reeks organische solventen waaronder aceton. De impermeabiliteit van het buitenste kuticulair membraan (dat niet verwijderd wordt door dekapsulatie) blijkt verantwoordelijk te zijn voor de weerstand der cysten voor deze stoffen (Morris en Afzelius, 1967 ; de Chaffoy et al., 1978). De reden voor het afsterven van een gedeelte der gedekapsuleerde embryo's is wellicht te wijten aan de aantasting van hun buitenste kuticulair membraan door de oxiderende werking van de hypochloriet-oplossing, met als gevolg het verlies van de volledige impermeabiliteit. De supplementaire afname van de ontluikbaarheid van cysten die na dekapsulatie 1 min langer in het hypochloriet-medium gehouden werden bevestigt deze hypothese. De ontluikbaarheid van deze cysten bedroeg na spoeling en acetonbehandeling gedurende 30 sec slechts 44 % t.o.v. de referentie.

Het gebruik van propanol heeft hetzelfde effect als de spoeling met aceton. Na een kontaktduur van 15 sec bedroeg de daling van de ontluikbaarheid reeds 17%.

Ondanks de daling van het ontluikingspercentage werd toch besloten de mogelijke voordelen van het gebruik van aceton voor het drogen der cysten te bestuderen. Daar aceton het aaneenkitten der cysten minimaliseert werden nu ook de statische droogsystemen weer in beschouwing genomen. Na spoeling in gekoeld water en gekoelde aceton werden de cysten gedroogd. De ontluikingsresultaten zijn weergegeven in Tabel XLI.

Tabel XLI. De invloed van verschillende droogtechnieken op de ontluikbaarheid van met aceton behandelde gedekapsuleerde cysten.

Droogtechniek	% onluiking t.o.v. de controle	vochtgehalte (%)
"Fluidized bed"-droger (35°C)		
- 15 min	57	13,1
- 60 min	23	5,1
Droogoven (35°C) - 24 h	69-82	6,4
Geventileerd zeefstelsel (35°C)		
- 2 h	-	3,6
- 20 h	89	3,0
Rotavapor (35°C) - 3 h	41	9,2

Na het drogen van de met aceton behandelde cysten werd een produkt bekomen dat samengesteld was uit individuele cysten en groepjes van cysten die na inkubatie vrij snel van elkaar loskwamen. De ontluikbaarheid van deze cysten was echter functie van de droogtechniek. De systemen waarbij de cysten kontinu in beweging werden gehouden tijdens het drogen lieten de grootste afname van de ontluikbaarheid noteren. Het gebruik van een "fluidized bed"-droger, die zeer geschikt is voor het drogen van niet behandelde cysten blijkt dus niet optimaal te zijn voor gedekapsuleerde cysten. Het gebruik van statische droogsystemen daarentegen resulteerde duidelijk in betere ontluikingsresultaten. Vooral het extra geventileerd systeem, waarmee een snelle droging bewerkstelligd wordt, leverde gunstige resultaten op. Door toepassing van dit systeem was het ontluikingspercentage immers niet meer significant gedaald ten opzichte van het cijfer bekomen na acetonspoeling.

Daar er echter nog steeds een daling van de ontluikbaarheid optrad, werd een andere mogelijkheid onderzocht om het samenkitten der cysten te verhinderen zonder hun leefbaarheid aan te tasten, namelijk het gebruik van diatomeeënaarde. Diatomeeënaarde wordt immers gebruikt bij het transport van viseieren om het aaneenkitten te voorkomen (Leenstra, pers. meded.). Om een goede vermenging te bekomen werd 25 ml van dit produkt in 100 ml leidingwater opgelost. De gedekapsuleerde cysten werden op een zeef van 110 μ m gebracht en grondig gespoeld met de kiezelguhr oplossing. Daarop werden ze gedroogd in een droogoven (35°C).

Na 24 h drogen was het vochtgehalte gedaald tot 6,4 % en bedroeg de ontluikbaarheid 94 % ten opzichte van het niet gedroogde referentiemonster. De diatomeeënaarde had bovendien een goede individualisering van de cysten tot gevolg.

De opgedane ervaringen met het drogen van gedekapsuleerde cysten laten ons toe te besluiten dat zowel het statisch drogen na een korte behandeling met gekoelde aceton als na behandeling met diatomeeënaarde belangrijke perspectieven opent voor hun kommercialisatie. Hierbij baseren wij ons in niet geringe mate op de vergelijking van de ontluikingsresultaten die hier bekomen werden en het ontluikingspercentage (22,6 %) van droge gedekapsuleerde cysten, die onlangs op de markt gebracht zijn door de San Francisco Bay Brand Company. Verder onderzoek met betrekking tot de verbetering van de hier uitgewerkte technieken (bijvoorbeeld dehydratatie in verzadigde $MgCl_2$ in plaats van $NaCl$, zie 8.3.3.2.) en de toepasbaarheid van deze technieken op grote schaal kan tot een doorbraak leiden.

8.3.3.2. De stockering van gedekapsuleerde cysten

De volgende stockeringsmethoden werden uitgetest :

- NaCl-pekel (350 g/l) : de traditionele methode
- $MgCl_2$ -pekel (1670 g/l)
- LiCl-pekel (637 g/l)
- na droging : - vakuum
 - stikstof
 - lucht
 - zuurstof

$MgCl_2$ - en LiCl-pekel werden als stockeringsmedia uitgetest, daar de verzadigde oplossingen van deze zouten een watergehalte bezitten van respectievelijk 6,5 en 3,2 %, wat aanzienlijk lager is dan het watergehalte (20 %) van een verzadigde NaCl-oplossing (Clegg, 1978). De stockeringsproeven werden uitgevoerd met gedekapsuleerde cysten van San Pablo Bay in duisternis bij kamertemperatuur ($\pm 20^\circ C$) en bij $-24^\circ C$. Na respectievelijk 6 en 18 maand werd het ontluikingspercentage van de diverse monsters bepaald. De resultaten zijn vermeld in Tabel XLII en grafisch voorgesteld in Fig. 37.

Tabel XLII. De invloed van de stockeringskondities op de ontluikbaarheid ¹ van gedekapsuleerde cysten

Stockeringskondities	6 maanden	18 maanden
NaCl-pekel (20°C)	86 **	69 **
(-24°C)	95	-
LiCl-pekel (20°C)	95	81 **
(-24°C)	103	83 **
$MgCl_2$ -pekel (20°C)	100	95
(-24°C)	103	94
Vakuum (20°C)	104	102
N ₂ (20°C)	101	94
Lucht (20°C)	97	92*
(-24°C)	105	92*
O ₂ (20°C)	99	75**

¹ uitgedrukt in % van de resultaten bekomen met het oorspronkelijk monster.
 */** significante daling op het * 0,05-niveau of ** 0,01-niveau

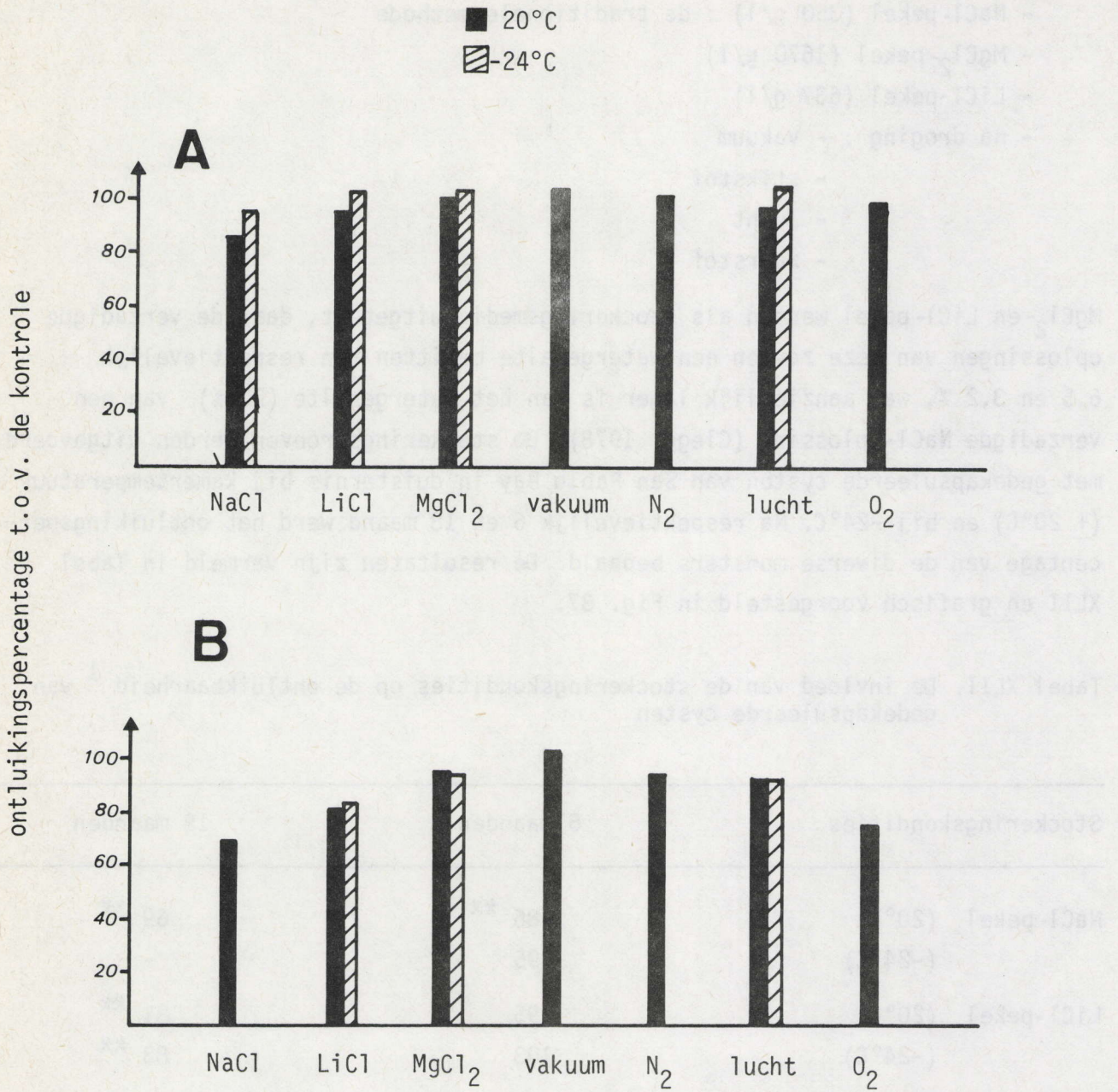


Fig.37. De invloed van de stockeringsmethode op de ontluiking van gedekapsuleerde cysten na respectievelijk 6 maanden (A) en 18 maanden (B) stockering

Bij de "natte" stockering kan na 6 maanden een duidelijk verschil vastgesteld worden tussen de resultaten bekomen in NaCl enerzijds en LiCl en $MgCl_2$ anderzijds. Bij een temperatuur van $20^{\circ}C$ resulteerde de stockering in NaCl in een significante daling van de ontluikbaarheid. Dit was niet het geval voor beide andere verzadigde oplossingen. Dit is te wijten aan de verschillende ontwatering der cysten. Zoals hierboven reeds aangestipt is het watergehalte in een verzadigde NaCl-oplossing van die aard dat de embryo's reeds een zekere enzymale activiteit vertonen. In verzadigde oplossingen van LiCl en $MgCl_2$, die watergehaltenes onder de 10% opleveren treden deze verschijnselen, die tot het afsterven van de embryo's kunnen leiden, niet op. Net zoals bij de onbehandelde cysten het geval was, is de daling van de ontluikbaarheid bij extreem lage temperaturen beperkt als gevolg van de minimale metabolische activiteit. Na 18 maanden bewaring in $MgCl_2$ -pekkel is er geen significante daling van de ontluikbaarheid waar te nemen. Dit is echter wel het geval voor LiCl-pekkel. Hoewel de reden hiervan ons niet duidelijk is mag het feit dat Li (een element met zeer laag atoomgewicht) toxisch is voor visembryo's (De Bondt, pers. meded.) niet uit het oog verloren worden.

Voor wat de gedroogde stalen betreft konden na 6 maanden geen significante verschillen in ontluikbaarheid vastgesteld worden. Na 18 maanden was echter de ontluiking significant gedaald en dit zowel na stockering in lucht, zij het in mindere mate, als na stockering onder zuurstof.

$MgCl_2$ blijkt dus een meer geschikt stockeringsmedium te zijn dan de traditionele gebruikte verzadigde NaCl-oplossing om de leefbaarheid der embryo's optimaal te houden. De hoge oplosbaarheid van $MgCl_2$, heeft voor gevolg dat grote hoeveelheden van dit zout dienen gebruikt te worden hetgeen routine toepassing van deze stockeringsvorm in de weg staat. Wanneer de gedekapsuleerde cysten op een efficiënte manier kunnen gedroogd worden, zonder noemenswaardige daling van hun leefbaarheid, kunnen de klassieke bewaringsmethoden met name onder vacuüm of stikstof, met succes toegepast worden.

8.4. De optimalisatie van de ontluikbaarheid der cysten.

Elk cystenmonster dat bij de verbruiker terechtkomt, levert onder standaardcondities een bepaalde hoeveelheid nauplii op die vooral bepaald wordt door de voorgeschiedenis der cysten. Aangezien de kostprijs van Artemia-cysten vrij hoog is, maakt dit in vele gevallen een belangrijk deel uit van de uitgaven van een kwekerij van vis- of crustaceëenbroed. Een zo economisch mogelijk gebruik van de cysten dringt zich dus op. In deze context werd de aandacht toegespitst op de optimalisatie van het gebruik van de beschikbare Artemia-cysten.

Alvorens kan gedacht worden aan de verbetering van de ontluikbaarheid der cysten is een zeker inzicht vereist in de metabolische processen die zich afspelen tijdens de ontwikkeling van het embryo tot vrijzwemmende naupliuslarve.

Vanaf het ogenblik dat de hygroscopische cysten na hydratatie een watergehalte van 65 % bereiken hebben gaan de embryo's in aanwezigheid van zuurstof actief metaboliseren (Clegg en Cavagnaro, 1976). Hoewel er veranderingen optreden in de aminozuurconcentratie (Dutrieu, 1960 ; Clegg, 1966 ; Emerson, 1967) blijkt uit de bevindingen van Urbani (1959), Muramatsu (1960) en Emerson (1963) dat in eerste instantie niet zozeer het eiwitmetabolisme doch vooral het koolhydraatmetabolisme geactiveerd wordt (zie ook Clegg en Conte, 1980). De koolhydraatreserve, die volgens Dutrieu (1959) en Clegg (1962) vooral bestaat uit trehalose, wordt omgezet in glycogeen en glycerol. Het glycogeen levert energie voor de respiratie (Clegg, 1962 ; Huggins en Boulton, 1970 ; Boulton en Huggins, 1977). De toename in glycerolconcentratie leidt tot een stijging van de inwendige osmotische druk (Clegg, 1962 ; 1964 ; 1967).

Bij een kritisch verschil tussen de inwendige cystendruk en deze in het inkubatiemedium gaan het chorion en de embryonale kuticula (Morris en Afzelius, 1967) openbarsten. Dit is de "breaking" waarbij het grootste gedeelte van het inwendige gesynthetiseerde glycerol in het medium vrijkomt.

(Clegg, 1964 ; Conte et al., 1977). Daarop gaat het embryo zich binnenin het zogenoemde "hatching"-membraan differentiëren . Tenslotte wordt onder invloed van het "hatching"-enzyme (Sato, 1967) het "hatching"-membraan doorbroken waarop de vrijzwemmende instar I-nauplius te voorschijn komt.

8.4.1. De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium

Het effect van de saliniteit op de ontluiking der cysten is van tweeërlij aard. In de eerste plaats bepaalt de saliniteit van het inkubatiemedium de dehydratatiegraad der cysten (Clegg, 1978). Daar de opname van een voldoende hoeveelheid water vereist is voor de start van het cystenmetabolisme, kan vanaf een bepaalde drempelwaarde de wateropname ontoereikend zijn. Literatuurgegevens in dit verband tonen aan dat die drempelwaarde varieert in functie van de geografische oorsprong der cysten. De hoogste saliniteit die Great Salt Lake-cysten toelaat tot "breaking" te komen bedraagt ongeveer 90 %. (D'Agostino, 1965 ; Von Hentig, 1971). Sorgeloos (1975) noteerde een zelfde waarde voor San Francisco Bay-cysten, hoewel D'Agostino (1965) een maximale

saliniteit van 75 - 80 ‰ vaststelde. Cysten van Bonaire komen tot ontluiking in saliniteiten tot meer dan 85 ‰ (Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972) en Lake Ontario-cysten zelfs bij saliniteiten hoger dan 95 ‰ (Ivanowsky et al., 1980). Terwijl voor de cysten van Zuni Salt Lake de uiterste saliniteitsgrens gelegen is tussen 73 en 99 ‰ (Bradbury, 1971), is de bovengrens voor andere rassen merkkelijk lager : Kiatuthlana Green en Red Ponds 58-85 ‰, Tuticorin 75 ‰, Penley Lake 44-58 ‰, Jesse Lake 26-32 ‰ (Cole en Whiteside, 1968 b; Broch, 1969 ; Mc Carraher, 1970 ; Royan, 1976 ; Collins, 1977). Mono Lake-cysten daarentegen kunnen zelfs bij een saliniteit van 189 ‰ tot ontluiking komen (Dana, 1981). Dit laatste gegeven biedt dus een verklaring voor het feit dat deze populatie zich kan handhaven, niettegenstaande het feit dat Mono Lake-cysten in hun natuurlijk biotoop bezinken.

In de tweede plaats heeft de saliniteit een invloed op de hoeveelheid glycerol die moet opgebouwd worden om tot het kritisch verschil in osmotische druk te komen dat leidt tot het openbarsten van de cysteschaal. Naarmate de saliniteit stijgt neemt de kwantiteit te produceren glycerol toe (zie Fig.38). Het is dus te verwachten dat een kleinere hoeveelheid energie zal dienen verbruikt te worden tijdens het ontluikingsproces, naarmate de saliniteit en bijgevolg ook de uitwendige osmotische druk daalt.

Het is dan ook niet onwaarschijnlijk dat de cysten van bepaalde geografische oorsprong over onvoldoende energiereserves beschikken om bij hogere saliniteiten tot ontluiking te komen. Jennings en Whitaker (1941) en Von Hentig (1971) stelden nochtans vast dat het ontluikingspercentage van Great Salt Lake-cysten konstant bleef in het saliniteitsinterval 4-79 ‰ respectievelijk 15-70 ‰. Sorgeloos (1975) vond voor San Francisco Bay-cysten een konstante ontluikbaarheid tussen 5 en 80 ‰. Nash (1973) rapporteerde echter een saliniteitsoptimum rond de 35 ‰. Kurata (1967) en Provenzano en Goy (1976) stelden vast dat het ontluikingspercentage van Chaplin Lake -cysten zeer laag is bij 35 ‰ doch een maximum bereikt bij 12 tot 15 ‰.

In dit kader werd dan ook voor een aantal geografische rassen het ontluikingspercentage vergeleken na inkubatie in natuurlijk zeewater (35 ‰) en in een medium met een saliniteit van 5 ‰. Het 5 ‰ medium werd bereid met verdund zeewater waaraan per liter 1 ml 0,5 M Na_2CO_3 toegevoegd werd, ten einde de pH optimaal te houden. Sato (1966, 1967) stelde immers vast dat het "hatching"-enzyme zijn optimale aktiviteit vertoont in het pH-gebied 8-9. In een met gedestilleerd water verdund medium zou zonder toevoeging van

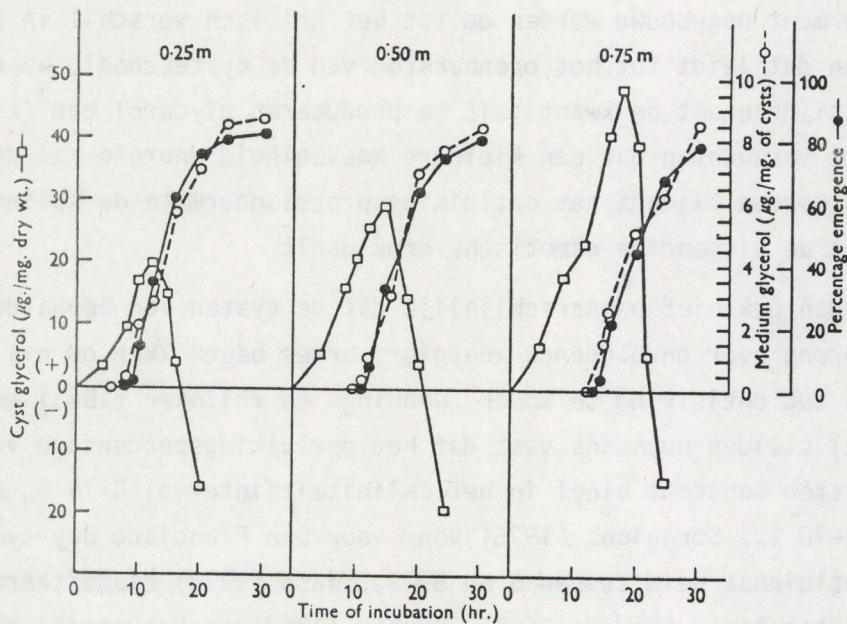


Fig.38. De evolutie van enerzijds de glycerolkoncentratie in de cysten en in het medium en anderzijds de procentuele ontluiking ("breaking") van cysten geïnkubeerd in 3 verschillende NaCl-oplossingen, in functie van de inkubatieduur (naar Clegg, 1964)

Na_2CO_3 de pH tot onder deze waarde dalen en een vermindering van het ontluikingspercentage tot gevolg hebben. Dit verklaart dan wellicht ook de daling van het ontluikingsrendement die door Kurata (1967) en Provenzano en Goy (1976) vastgesteld werd in media met een saliniteit kleiner dan 12 ‰.

Het ontluikingspercentage werd steeds bepaald volgens de methode beschreven in 8.2. Uit de resultaten, weergegeven in Tabel XLIII, blijkt dat voor de meeste bestudeerde Artemia-rassen inkubatie bij de lagere saliniteit geen noemenswaardige invloed heeft op het ontluikingspercentage. Een statistische vergelijking van de bekomen resultaten (t-testen), wees uit dat enkel voor de rassen van Chaplin Lake, Buenos Aires en Galera Zamba een significante toename van het aantal geproduceerde nauplii kan vastgesteld worden.

Tabel XLIII. De invloed van de saliniteit van het ontluikingsmedium op het ontluikingspercentage van de cysten van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Ontluikingspercentage				Procentueel verschil	
	35 ‰		5 ‰			
	\bar{X}	s	\bar{X}	s		
San Francisco Bay	71,4	4,5	68,0	9,3	-	4,8
Macau	82,0	9,0	86,4	5,1	+	5,4
Barotac Nuevo	78,0	5,3	82,1	6,7	+	5,3
San Pablo Bay	84,3	5,2	87,6	3,0	+	3,9
Great Salt Lake	43,9	5,2	45,3	2,7	+	3,2
Chaplin Lake (1978)	11,9	3,0	49,0	3,5	+	311,7 *
Chaplin Lake (1979)	19,5	3,1	52,2	3,6	+	167,7 *
Buenos Aires	62,8	3,9	73,2	3,0	+	16,6 *
Galera Zamba	80,4	9,3	88,0	2,0	+	9,5 *
Shark Bay	87,5	4,8	85,8	3,7	-	1,9
Tientsin (1)	73,5	6,4	75,0	5,5	+	2,0
Tientsin (2)	66,3	3,9	66,0	4,2	-	0,5
Lavalduc	75,8	6,2	77,2	6,0	+	1,8
Margherita di Savoia	77,2	4,7	76,4	4,8	-	1,0
Mono Lake	1.2	1.2	1.4	1.6		0.0

* significant op het 0,05-niveau

Volgens de theorie van het "trehalose-glycerol hyperosmotic regulatory system" van Clegg en Conte (zie hoger) zou dit erop wijzen dat althans een gedeelte van de cysten van deze rassen niet over voldoende energie beschikt om het kritisch verschil in osmotische druk te doorbreken in zeewater van 35 ‰. Vooral bij de Chaplin Lake-cysten is een spektakulaire toename van het aantal ontloken nauplii waar te nemen bij 5 ‰. De bijzondere ionensamenstelling van het biotoop van dit ras kan hier wellicht een verklaring brengen. Chaplin Lake is inderdaad een sulfaatmeer (Hammer, 1978) waarbij Na_2SO_4 het belangrijkste opgeloste zout is. Aangezien bijvoorbeeld een oplossing van 63 g/l Na_2SO_4 dezelfde osmotische druk oplevert als een oplossing van 27 g/l NaCl (Weast, 1973), zijn Chaplin Lake-cysten in hun natuurlijk milieu dat een kwantitatief gelijkaardig zoutgehalte bezit als de meeste andere biotopen, geadapteerd aan de ontluiking bij een lagere osmotische druk : zij dienen hierbij dus minder energie te verbruiken. Bevestiging voor deze hypothese kon bekomen worden door Chaplin Lake-cysten tot ontluiking te laten komen in een artificieel medium met een analoge ionensamenstelling als Chaplin Lake-water bij een saliniteit van 35 ‰ : het ontluikingspercentage bedroeg 44,4 % hetgeen ruimschoots hoger is dan de waarde bekomen in NaCl-zeewater van 35 ‰, namelijk 19,5 %. Om tot volledige zekerheid te komen dienen nog cystenmonsters van andere zogenoemde sulfaatmeren onderzocht te worden. Bij gebrek aan dergelijk materiaal was dit echter nog niet mogelijk. Behalve het ras van Mono Lake, dat naast chloriden grote hoeveelheden carbonaten bevat (analoge osmotische druk) zijn de overige bestudeerde rassen uitsluitend afkomstig van chloride-biotopen. Voor het biotoop van Buenos Aires beschikken wij nog over geen gegevens omtrent de ionensamenstelling.

Opmerkelijk is dat precies bij de 2 rassen die de hoogste toename in ontluikingspercentage kennen door inkubatie bij lage saliniteit, veruit het hoogste energieverbruik vastgesteld wordt tijdens het ontluikingsproces (zie Hoofdstuk 7.4.1.). Deze vaststelling levert dan ook meer evidentie op voor de thesis dat de stijging van de ontluikbaarheid bij lagere salinititeiten energetisch gebonden is. Wellicht moet de vaststelling van Boulton en Huggins (1977) dat het verloop van de trehaloseconcentratie tijdens het cystenmetabolisme varieert van ras tot ras, in hetzelfde licht beschouwd worden.

De gegevens voor de monsters van Chaplin Lake en Tientsin laten verder uitschijnen dat vooral het kwalitatief effect van de saliniteit op de ontluikbaarheid rasgebonden is terwijl het kwantitatief effect kan variëren van

cystenmonster tot cystenmonster. Daarbij is het dus niet uitgesloten dat specifieke monsters van de rassen welke hier geen verandering in ontluikbaarheid lieten noteren, wel verbeterde resultaten kunnen opleveren na inkubatie in 5 %. Hierbij denken wij vooral aan cystenmonsters die tijdens hun voorgeschiedenis een gedeelte van hun energie verloren hebben (zie hoger).

Tenslotte dient opgemerkt dat het gebruik van een inkubatiemedium met lage saliniteit niet voor alle cystenmonsters hogere ontluikingswaarden doet opleveren. Zo blijft de ontluikbaarheid van Mono Lake-cysten zowel in 5 als in 35 % extreem laag. Een mogelijke invloed van de ionensamenstelling van het gebruikte zeewater lijkt nochtans uitgesloten. Dana (1981) stelde immers vast dat Mono Lake-cysten zelfs beter tot ontluiking komen in NaCl-zeewater dan in verdund water van het carbonaatrijke Mono Lake met dezelfde saliniteit. Dezelfde auteur meldde echter dat de cysten van Mono Lake een lange anoxische preïnkubatie bij lage temperatuur (5°C) nodig hebben om de diapauzetoestand op te heffen.

8.4.2. De invloed van de dekapsulatie der cysten

Een tweede middel dat mogelijks een stijging van het ontluikingspercentage zou kunnen opleveren is de dekapsulatie der cysten. Het is immers niet onmogelijk dat het embryo een minder hoge osmotische druk moet opbouwen om tot ontluiking te komen wanneer het chorion verwijderd is. Bovendien is het niet onwaarschijnlijk dat ook het externe kuticulair membraan aan weerstand en stevigheid ingeboet heeft onder invloed van de behandeling der cysten met de sterk oxyderende hypochlorietoplossing. Analooq als bij een lagere saliniteit van het inkubatiemedium zouden de embryo's dus minder energie dienen te verbruiken om tot ontluiking te komen, wat bij sommige rassen met energiearme cysten aanleiding zou kunnen geven tot een stijging van het ontluikingspercentage.

De cysten werden gedekapsuleerd volgens de techniek beschreven in hoofdstuk 6.5. De inkubatie vond plaats in zeewater met een saliniteit van 35 % en het ontluikingspercentage werd bepaald volgens de methode vermeld in hoofdstuk 8.2.

De ontluikingsresultaten zijn samengevat in Tabel XLIV. Het is duidelijk dat de verwijdering van het chorion voor praktisch alle onderzochte rassen een significante positieve invloed heeft op het ontluikingspercentage. De

procentuele stijging is echter opnieuw het hoogst voor de cysten van Chaplin Lake en Buenos Aires. Dit wijst erop dat de oorzaak van de toename wellicht van dezelfde aard is als bij lage saliniteiten van het inkubatiemedium. Het waargenomen verschil is echter voor de meeste rassen hoger na dekapsulatie, wat erop duidt dat toepassing van deze techniek de benodigde ontluikingsenergie het sterkst beperkt. Er is echter geen korrelatie waarneembaar tussen de stijging van het ontluikingspercentage en de dikte van het chorion (zie Hoofdstuk 7.1.2). Zo bezitten de cysten van Chaplin Lake zelfs het dunste chorion van al de bestudeerde rassen. Dit laat vermoeden dat niet zozeer de verwijdering van het chorion, doch eerder de aantasting van het weerstandbiedende buitenste kuticulair membraan de aanleiding is tot de verhoogde ontluiking.

Tabel XLIV. De invloed van de dekapsulatie der cysten op het ontluikingspercentage voor diverse geografische rassen van Artemia.

Geografische oorsprong	Ontluikingspercentage				Procentueel verschil	
	Onbehandeld		Na dekapsulatie			
	\bar{X}	s	\bar{X}	s		
San Francisco Bay	71,4	4,5	82,1	7,9	+	15,0 *
Macau	82,0	9,0	91,5	2,0	+	11,6 *
Barotac Nuevo	78,0	5,3	86,8	8,0	+	11,3 *
San Pablo Bay	84,3	5,2	90,8	1,2	+	7,7 *
Great Salt Lake	43,9	5,2	54,6	8,0	+	24,4 *
Chaplin Lake (1978)	11,9	3,0	39,3	8,6	+	230,3 *
Chaplin Lake (1979)	19,5	3,1	45,3	5,6	+	132,3 *
Buenos Aires	62,8	3,9	84,5	5,0	+	34,6 *
Galera Zamba	80,4	9,3	91,6	4,1	+	13,9 *
Shark Bay	87,5	4,8	90,9	2,4	+	3,9
Tientsin (1)	73,5	6,4	76,2	3,1	+	3,7
Tientsin (2)	66,3	3,9	69,8	4,7	+	5,3
Lavalduc	75,8	6,2	77,2	2,9	+	1,8
Margherita di Savoia	77,2	4,7	84,8	2,9	+	9,8 *

* significant op het 0,05 niveau

Uitgaande van de verbetering der ontluikingsresultaten die zowel door dekapsulatie als door inkubatie bij 5 % kan geïnduceerd worden, is het niet onlogisch te verwachten dat de inkubatie van gedekapsuleerde cysten bij 5 % het ontluikingspercentage verder kan optimaliseren. Enkele experimenten in dit verband wezen echter uit dat op uitzondering van Chaplin Lake-cysten (stijging in ontluikingspercentage van respectievelijk 457 en 231 % voor de monsters van 1978 en 1979) geen verdere toename bekomen werd. Het procentueel verschil ten opzichte van het onbehandeld monster geïnkubeerd bij 35 % bedroeg respectievelijk voor San Pablo Bay -1,4 %, Galera Zamba + 9,8 % en Buenos Aires + 19,9 %. Bij sommige rassen was er zelfs een significante daling van het ontluikingspercentage waar te nemen. Zo bedroeg het ontluikingspercentage van Shark Bay- en Tientsin-cysten slechts 60,3%, respectievelijk 56,9 %. Opvallend is hierbij dat precies de rassen die geen significante toename van de ontluikbaarheid kenden onder invloed van de toegepaste technieken, een significante daling lieten noteren wanneer beide technieken simultaan toegepast werden. Bij de tellingen kon vastgesteld worden dat een aanzienlijk gedeelte van de gedekapsuleerde cysten opengebarsten was en dat het embryo als een niet gedifferentieerde massa naar buiten gevloeid was. Dit zou erop wijzen dat door beide methoden tegelijkertijd toe te passen de energierijke larven het "breaking"-stadium in een te vroeg stadium bereiken waarbij het "onbeschermde" embryo nog niet in staat is zich verder te ontwikkelen.

Als besluit kan alvast gesteld worden dat zowel de dekapsulatie der cysten als de inkubatie van het cystenmateriaal bij een lagere saliniteit bij diverse Artemia-rassen en cystenmonsters aanleiding geeft tot een verhoogde produktie van het aantal nauplii en aldus kan leiden tot een besparing op het cystenverbruik.

8.4.3. De invloed van de temperatuur van het inkubatiemedium

Naast de saliniteit blijkt ook de temperatuur van het inkubatiemedium een belangrijke invloed uit te oefenen op de ontluikbaarheid der cysten. Volgens Iwasaki (1964) en Iwasaki en Nakanishi (1966) wordt het cystenmetabolisme reversiebel stilgelegd bij een temperatuur lager dan 4°C. Voor wat de bovengrens betreft rapporteerde Sorgeloos (1975) dat boven de 33 à 35°C het cystenmetabolisme eveneens reversiebel wordt stilgelegd. Binnen dit interval stelde Von Hentig (1971) een verminderde ontluiking vast bij 10°C en een konstant

ontluikingspercentage tussen 15 en 30°C. Jones (1972) en Sorgeloos (1975) bevestigden deze laatste vaststelling voor een temperatuurgebied begrepen tussen 20° en 30°C, respectievelijk 20° en 28°C.

De temperatuur blijkt dus binnen een vrij breed interval de ontluikbaarheid der cysten niet te beïnvloeden. Volgens de wet van Van 't Hoff zou een temperatuurverandering van 15 tot 25°C slechts subtiële veranderingen in osmotische druk teweegbrengen in vergelijking met een saliniteitsverandering van 35 tot 5 ‰. Von Hentig (1971) stelde nochtans vast dat het individueel drooggewicht van Great Salt Lake-nauplii toenam naarmate de inkubatietemperatuur steeg, wat erop zou wijzen dat het embryo bij lage temperatuur meer ontluikingsenergie verbruikt.

De hierboven aangehaalde temperatuurintervallen zijn slechts voor een paar Artemia-rassen vastgelegd (San Francisco Bay en Great Salt Lake). Vermits de diverse Artemia-rassen afkomstig zijn uit gebieden met zeer verschillende temperatuurregimes (zie Hoofdstuk 2.3) is het niet onwaarschijnlijk dat de temperatuuroptima en -tolerantie met betrekking tot de ontluiking variëren tussen de diverse rassen. Zo noteerde Royan (1975) voor het Artemia-ras van Tuticorin een stijging van het ontluikingspercentage van 5 % bij 25°C tot 50 % bij 30°C. Iwanovskij et al. (1980) stelden vast dat het ontluikingspercentage van een 3-tal Russische rassen het hoogst was in het interval 26-30°C. Mono Lake-cysten daarentegen bereikten hun hoogste ontluikingspercentage bij 5°C (Dana, 1981).

In dit kader werd het effect van de temperatuur op ontluikbaarheid van Artemia-cysten van diverse geografische oorsprong vergeleken ; enerzijds met de bedoeling de optimale ontluikingstemperatuur vast te leggen en anderzijds de temperatuurtolerantie van de diverse rassen te bestuderen.

De gebruikte experimentele procedure week enigzins af van de algemeen toegepaste methodiek (zie Hoofdstuk 8.2.1.). Dit omwille van het feit dat het niet mogelijk was de petriplaatjes op voldoende betrouwbare wijze te inkuberen bij de diverse testtemperaturen.

De gezuiverde cysten werden gelijkmatig verdeeld over 8 cilindrokonische buizen gevuld met 80 ml zeewater (35 ‰). Na ongeveer 1 h werd het watervolume in iedere buis op 100 ml gebracht. De inkubatiebuizen waren per 2 in gethermostateerde waterbaden geplaatst bij 25° , 30° , 34° en 37°C ($\pm 0,2^{\circ}\text{C}$).

Lagere temperaturen werden niet uitgetest daar de sterk vertraagde ontluikingsnelheid bij dergelijke temperaturen (Von Hentig, 1970 ; Sorgeloos et al. 1978b ; Dana, 1981) niet interessant is voor praktijktoepassingen. Na 48 h werden met een mikropipet uit elke buis 5 deelmonsters genomen die ieder 100 à 150 individuen bevatten. Deze werden in afzonderlijke petriplaatjes gebracht en gefixeerd met een paar druppels lugol-oplossing. De nauplii werden geteld. Daarop werden in elk petriplaatje 1 druppel NaOH en 3 druppels NaOCl gebracht zodat de cysteschalen opgelost werden en de niet ontloken embryo's konden geteld worden. Enkele preliminaire proeven hebben uitgewezen dat de aldus bekomen ontluikingscijfers niet significant verschilden van de resultaten bekomen met de methode beschreven in hoofdstuk 8.2. De resultaten van de deelmonsters van de 2 buizen die bij elke temperatuur opgesteld waren, werden samengevoegd op voorwaarde dat hun gemiddelden niet significant verschillend waren op het niveau 0,05 (t-testen).

De gemiddelde ontluikingspercentages van de diverse rassen bij de verschillende testtemperaturen zijn weergegeven in Tabel XLV. Voor elk ras afzonderlijk werden de resultaten onderworpen aan een variantie-analyse (Middel I) gevolgd door de toets van Duncan. De resultaten van deze statistische toetsen zijn eveneens in Tabel XLV vermeld.

Uit de overzichtstabel blijkt duidelijk dat de temperatuur van het inkubatiemedium een belangrijke invloed uitoefent op de ontluikbaarheid der cysten. Voor de meeste rassen is de ontluiking maximaal bij een temperatuur van 25 tot 30°C. Binnen dit interval zijn er immers voor de meeste rassen geen significante verschillen in ontluikbaarheid waar te nemen. Diverse rassen leveren betere resultaten op bij een temperatuur van 25°C dan bij 30°C (Barotac Nuevo, Chaplin Lake, Bahia de Ceuta, Eilat, Larnaca en Barbanera). Het aantal nauplii geproduceerd uit Larnaca-cysten vermindert zelfs drastisch bij een temperatuurstijging van 25 tot 30°C. In overeenstemming met de bevinding van Royan (1975) is het ras van Tuticorin het enige dat een significant betere ontluiking laat optekenen bij 30°C.

Bij een verdere toename van de temperatuur tot 34°C gaat het ontluikingspercentage van alle rassen, Manaure uitgezonderd, significant achteruit ten opzichte van de resultaten bekomen bij 25°C. Wanneer de procentuele daling van de ontluikbaarheid in beschouwing genomen wordt is het duidelijk dat de afname aanzienlijk verschilt voor de diverse Artemia-rassen.

Tabel XLV. De invloed van de inkubatietemperatuur op het ontluikingspercentage van de cysten van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Gemiddeld ontluikingspercentage			
	25°C	30°C	34°C	37°C
San Francisco Bay	71,5 ^a ¹	71,3 ^a	67,7 ^b	41,5 ^c
Macau (871172)	84,5 ^a	77,9 ^{a,b}	72,2 ^b	43,5 ^c
Macau (971051)	81,0 ^a	76,6 ^a	70,8 ^b	48,3 ^c
Barotac Nuevo	77,8 ^a	69,3 ^b	67,4 ^b	40,5 ^c
Great Salt Lake (1977)	44,2 ^{a,b}	48,0 ^a	41,7 ^b	15,0 ^c
Great Salt Lake (185-1979)	70,5 ^a	63,9 ^b	37,9 ^c	5,5 ^d
Chaplin Lake	19,0 ^a	13,9 ^b	10,9 ^b	3,7 ^c
Manaure	25,6 ^a	25,3 ^a	25,3 ^a	5,3 ^b
Bahia Salinas	74,5 ^a	70,3 ^a	63,7 ^b	20,4 ^c
Bahia de Ceuta	85,6 ^a	76,9 ^b	73,0 ^b	50,4 ^c
Buenos Aires	62,7 ^a	61,8 ^a	41,0 ^b	0,0 ^c
Larnaca	87,0 ^a	38,5 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
Barbanera	23,0 ^a	18,5 ^b	0,7 ^c	0,0 ^c
Shark Bay (114)	88,4 ^a	86,3 ^a	75,0 ^b	2,7 ^c
Shark Bay (1980)	85,8 ^a	85,0 ^a	32,3 ^b	0,0 ^c
Tientsin	73,9 ^a	75,1 ^a	47,4 ^b	0,0 ^c
Lavalduc	81,4 ^a	80,0 ^a	20,4 ^b	0,0 ^c
Eilat	73,8 ^a	62,3 ^b	13,8 ^c	0,0 ^d
Tuticorin	58,6 ^b	73,8 ^a	28,2 ^c	0,0 ^d
Margherita di Savoia	68,0 ^a	67,7 ^a	27,8 ^b	0,0 ^c
Chaplin Lake ²	49,8 ^a	34,8 ^b	29,1 ^b	7,9 ^c

¹ per ras zijn de resultaten aangeduid met eenzelfde letter niet significant verschillend op het 0,05-niveau

² geïnkubeerd bij een saliniteit van 5 %.

Voor de meeste bisexuele rassen van het Artemia franciscana "sibling species" is de afname beperkt tot maximaal 15 %. Enkel de Chaplin Lake-cysten en één der Great Salt Lake-monsters kennen een grotere afname van respectievelijk 43 en 46 %.

Alle parthenogenetische rassen laten een aanzienlijke vermindering van de ontluikbaarheid noteren, die varieert tussen 36 en 81 %. Voor wat het monster nr 114 van Shark Bay betreft dient opgemerkt dat dit monster nog een gering percentage bisexuele vormen bevatte die volgens Abreu-Grobois en Beardmore (1980) tot het Artemia franciscana "sibling species" behoren. De Europese bisexuele populaties van Larnaca en Barbanera behorend tot het Artemia tunisiana (= Artemia salina) "sibling species" (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982) komen praktisch niet meer tot ontluiking bij 34°C.

Een verdere stijging van de inkubatietemperatuur tot 37°C resulteert in een significante daling van het ontluikingspercentage voor alle rassen. De reeds vastgestelde verschillen tussen de diverse "sibling species" zetten zich hier door. De cysten van de parthenogenetische rassen evenals de cysten van de Artemia tunisiana-soort komen niet meer tot ontluiking. Dit is eveneens het geval voor de cysten van Buenos Aires, de enige vertegenwoordiger van het Artemia persimilis "sibling species". Voor de rassen behorend tot de Artemia franciscana-soort kan daarentegen nog een substantieel ontluikingspercentage genoteerd worden. Kwantitatief gezien komen tussen de rassen van dit "sibling species" echter aanzienlijke variaties voor.

Uit het voorgaande blijkt duidelijk dat er een goede relatie bestaat tussen de temperatuurtolerantie voor de ontluiking en de diverse "sibling species" van Artemia. Zoals blijkt uit Fig. 39, waarin de gemiddelde relatieve verandering van de ontluikbaarheid van de cysten der diverse "sibling species" is voorgesteld, zijn de bisexuele rassen van het Artemia tunisiana "sibling species" zeer gevoelig aan hoge temperaturen. Dit is in mindere mate ook het geval voor de Artemia parthenogenetica-rassen en het Artemia persimilis-ras. De bisexuele Artemia franciscana-rassen zijn vrij tolerant ten opzichte van hoge temperaturen. Voor wat de parthenogenetische rassen betreft kon geen onderscheid vastgesteld worden tussen het diploïde ras (Shark Bay), de triploïde (Eilat, Tuticorin) en de gemengd diploïde-tetraploïde rassen (Margherita di Savoia, Tientsin, Lavalduc). Evenmin kon de temperatuurtolerantie gekorreleerd worden met het temperatuurregime van de Artemia-biotopen. Zo is de relatieve daling in ontluikbaarheid vrijwel dezelfde voor

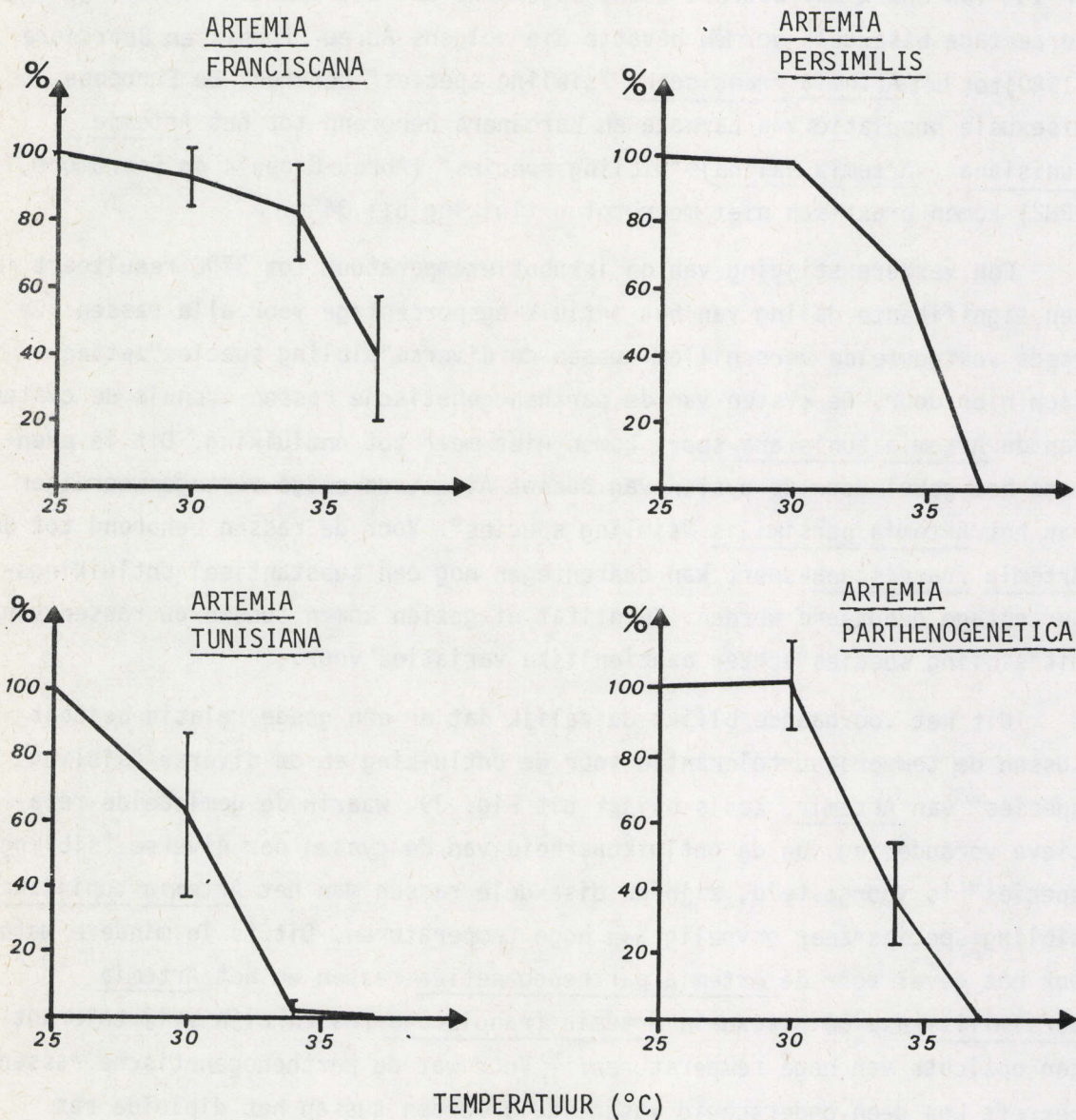


Fig.39. Gemiddelde relatieve verandering van de ontluikbaarheid der cysten van diverse "sibling species" van Artemia in functie van de temperatuur (I standaarddeviatie)

het Chaplin Lake dat 's winters met een ijslaag bedekt is (Hammer, 1978) als voor de rassen afkomstig van biotopen die in de tropische of sub-tropische gordel gelegen zijn zoals Manaure, Bahia Salinas en Bahia de Ceuta.

Opmerkelijk is ook het feit dat de daling van de ontluikbaarheid onder invloed van een stijgende temperatuur, hetzelfde verloop kent voor de cysten-monsters van San Francisco Bay, Macau en Barotac Nuevo. De temperatuur in de biotopen van Macau en Barotac Nuevo, beide geënt met San Francisco Bay - cysten is nochtans hoger dan deze van San Francisco Bay. (Carpelan, 1957, Vos et al., 1983). De temperatuurtolerantie bij de ontluiking is dus blijkbaar weinig afhankelijk van de temperatuur waarbij de cysten geproduceerd worden.

De bekomen gegevens tonen verder nog aan dat de invloed van het "trehalose-glycerol hyperosmotic regulatory system" beperkt is in het bestudeerde temperatuurinterval. Vooral de temperatuurtolerantie gaat mee een rol spelen. Dit wordt geïllustreerd door de ontluikingscijfers van het Chaplin Lake-ras. Terwijl inkubatie bij een lagere saliniteit een significante toename van de ontluikbaarheid tot gevolg heeft, resulteert de verhoging van de inkubatietemperatuur zowel bij 5 ‰ als bij 35 ‰ in een significante daling van het ontluikingspercentage.

Voor wat de praktijk betreft blijkt uit het geheel der vaststellingen dat, op uitzondering van het ras van Tuticorin, een maximale ontluiking bekomen wordt bij een temperatuur van 25°C. Wanneer de ontluikingsnelheid echter kritisch is, kan voor een aantal rassen overwogen worden de inkubatietemperatuur tot 30°C te laten stijgen. Een verdere verhoging van de temperatuur leidt steeds tot een aanzienlijke vermindering van het aantal geproduceerde nauplii.

8.5. De ontluikingssnelheid

8.5.1. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid der cysten

Naast de temperatuur, de saliniteit, de pH en het zuurstofgehalte van het inkubatiemedium zijn ook de lichtkondities van belang voor de ontluiking der cysten. De stijging in ontluikbaarheid na belichting in vergelijking tot inkubatie in duisternis werd voor San Francisco Bay-en Great Salt Lake-cysten voor het eerst beschreven door Sorgeloos (1973).

Inmiddels werd het belang van een voldoende belichting door diverse auteurs voor verschillende Artemia-rassen aangetoond : San Francisco Bay (Meade, 1976 ; Spektorova en Syomik, 1979) ; Tuticorin (Royan, 1976);

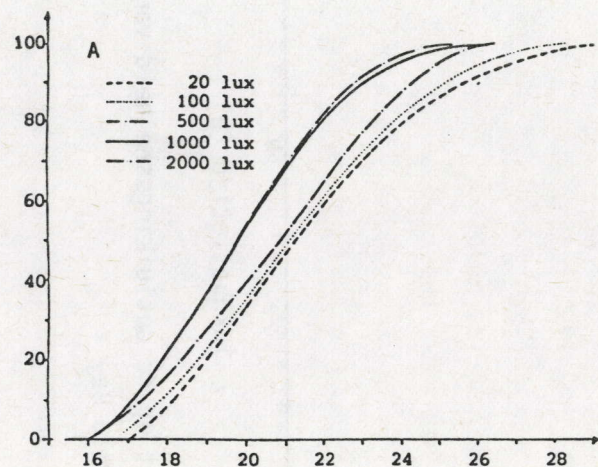
Larnaca (Person-Le Ruyet en Salaun, 1977) ; "Caspian and Crimean" Artemia-rassen (Spektorova en Syomik, 1979). Fuchs (1976) daarentegen vond geen verschillen in ontluikingsrendement tussen al dan niet belichte cysten van San Francisco Bay en Sète.

Uit de literatuur met betrekking tot de invloed van diverse abiotische factoren op de ontluiking der cysten (Von Hentig, 1971 ; Sorgeloos, 1980a) kon afgeleid worden dat de ontluikingssnelheid gevoeliger is dan het ontluikingsrendement t.o.v. fluktuaties van de temperatuur en saliniteit. Bijgevolg kan verwacht worden dat de lichtintensiteit ook een invloed heeft op de ontluikingssnelheid der cysten. Op basis van de verschillen in cystenkenmerken tussen de diverse Artemia-rassen is het niet onwaarschijnlijk dat ook het lichteffect varieert van ras tot ras. De volgende Artemia-rassen werden bestudeerd : Buenos Aires, Chaplin Lake, Great Salt Lake en San Pablo Bay. Voor het laatste ras werden zowel gedekapsuleerde als onbehandelde cysten uitgetest.

Cylindrokonische buizen werden op verschillende afstanden van een TL-lamp (60 Watt) geplaatst, zodat de volgende lichtintensiteiten (gemeten met een luxmeter) bekomen werden : 20, 100, 500, 1000 en 2000 lux. Een goede ventilatie zorgde ervoor dat de temperatuur in alle buizen dezelfde was. De ontluikingssnelheid werd bepaald volgens de methode beschreven in 8.2. Per lichtintensiteit werd echter slechts 1 buis opgezet en uit elke buis werden om het uur 5 deelmonsters genomen.

De resultaten bekomen met de verschillende Artemia-rassen zijn voorgesteld in Fig. 40. Over het algemeen blijkt de ontluikingssnelheid alsook de ontluikingssynchronie toe te nemen bij een hogere lichtintensiteit. Vanaf een zekere lichtsterkte blijft de ontluikingssnelheid echter konstant. Deze drempelwaarde varieert duidelijk van ras tot ras. Great Salt Lake-cysten vertonen minimale verschillen in ontluikingssnelheid bij de verschillende lichtintensiteiten. De San Pablo Bay-en Buenos Aires-cysten komen langzamer tot ontluiking bij de laagste lichtintensiteiten. De drempelwaarde voor een optimale ontluikingssnelheid is voor San Pablo Bay gelegen tussen 100 en 500 lux ; voor het ras van Buenos Aires situeert deze waarde zich tussen 500 en 1000 lux. De cysten van Chaplin Lake blijken zeer gevoelig te zijn voor licht. Niet alleen de ontluikingssnelheid doch ook het ontluikingspercentage wordt in ruime mate beïnvloed door de aangewende lichtintensiteiten. Een maximale ontluiking gekoppeld aan een optimale ontluikingssnelheid wordt slechts bekomen vanaf een lichtintensiteit van 1000 lux.

ontluikings-
percentage



ontluikings-
percentage

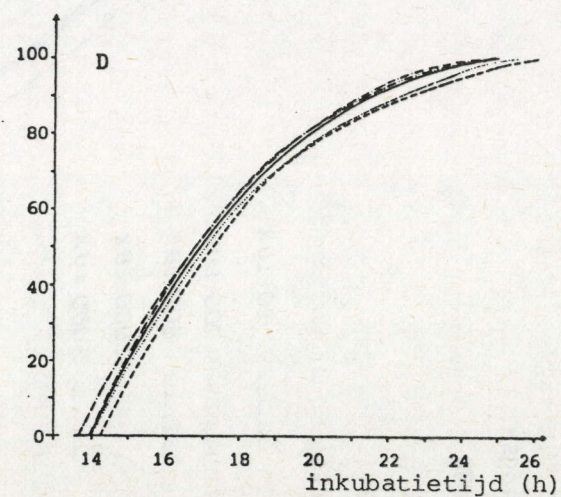
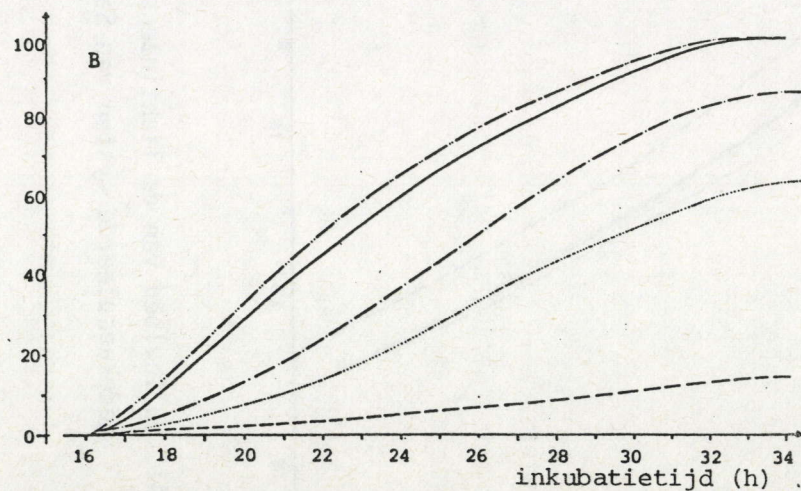
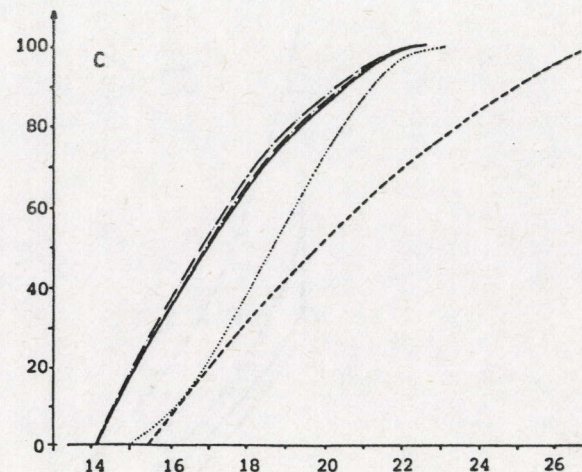


Fig.40. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid van Artemia-cysten van Buenos Aires (A), Chaplin Lake (B), San Pablo Bay (C) en Great Salt Lake (D)

ontluikings-
percentage

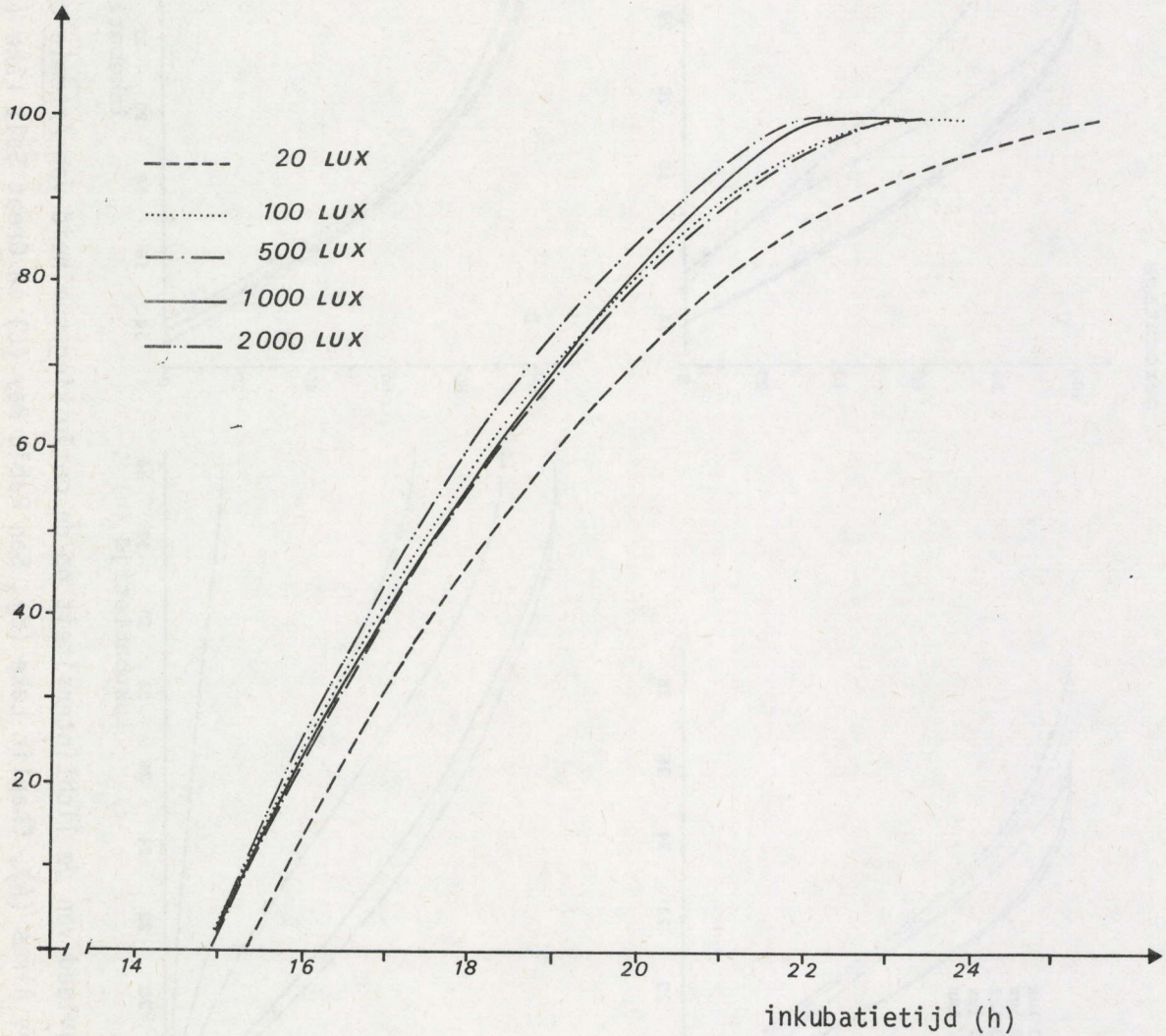


Fig. 41. De invloed van de lichtintensiteit op de ontluikingssnelheid van gedekapsuleerde cysten van San Pablo Bay

Uit de gegevens van de gedekapsuleerde cysten van San Pablo Bay (Fig. 41) blijkt dat de chorionverwijdering resulteert in een daling van de drempelwaarde van 100-500 lux voor de onbehandelde cysten tot 20-100 lux voor de gedekapsuleerde cysten.

Volgens Sorgeloos en Persoone (1975) zijn Artemia-cysten gevoelig voor licht vanaf het ogenblik dat zij onder aërobe condities volledig gehydrateerd zijn. Deze auteurs rapporteerden tevens dat een minimale dosis licht vereist is om de start van het metabolisme van het embryo op te wekken. Uit de hierboven vermelde bevindingen kunnen we extrapoleren dat, wanneer de lichtintensiteit beneden de kritische drempelwaarde voor een maximale ontluikingssnelheid blijft, progressief meer tijd nodig is voor de accumulatie van licht om de vereiste dosis te bekomen.

De lichtabsorptie door het chorion der cysten is gerapporteerd voor Triops (Hempel-Zawitkowska, 1970) en voor Artemia (Iwasaki et al., 1980). De afname van de drempelwaarde der lichtintensiteit na dekapsulatie der cysten vormt een extra bewijs voor deze eigenschap. Bijgevolg is het niet onwaarschijnlijk dat de vastgestelde verschillen tussen de Artemia-rassen te wijten zijn aan verschillende absorptiekaracteristieken van hun chorion. Voor wat betreft de rassen van Buenos Aires, San Pablo Bay en Great Salt Lake kan inderdaad een duidelijk verband genoteerd worden tussen de dikte van het chorion (respektievelijk 10,4, 7,6 en 4,7 μm) en het drempelgebied der lichtintensiteit voor een maximale ontluikingssnelheid (respektievelijk 500-1000, 100-500 en 0-20 lux). Deze relatie kan echter niet uitgebreid worden tot alle Artemia-rassen. De cysten van Chaplin Lake die een minimale lichtintensiteit van 1000 lux nodig hebben om met maximale snelheid tot ontluiking te komen, bezitten immers een relatief dun chorion (5,35 μm). Een mogelijke parameter die kan interfereren met de choriondikte is de concentratie van het chorionpigment haematine (Gilchrist en Green, 1960), waarvan gekend is dat het verantwoordelijk is voor de lichtabsorptie van het chorion (Hempel-Zawitkowska, 1970). Variaties in de fraktie der cysten die de lichtstimulus niet nodig hebben om tot ontluiking te komen (Sorgeloos, 1973), als gevolg van verschillen in de verwerkings- of stockeringscondities der cysten, kunnen eveneens een rol spelen.

Uitgaande van de belangrijke rasverschillen die voor diverse cystenmerken blijken te bestaan, kan men zich ook afvragen in hoeverre rasspecifieke verschillen met betrekking tot het sensormechanisme voor licht kunnen

verwacht worden. Zolang dit mechanisme niet geïdentificeerd is, blijven alle hypothesen omtrent dit stimulerend effect van licht bij het opwekken van het cystenmetabolisme louter spekulatief.

Daar de noodzaak van licht voor de stimulatie van de ontluiking der cysten van de zoetwater Conchostraca Eulimnidia antlei kan geëlimineerd worden door droging (Belk, 1972) is het niet onwaarschijnlijk dat licht werkt als een inhibitor van de diapauze. Het is inderdaad zo dat diverse soorten "environmental shocks" (Prophet, 1963) gerapporteerd werden als zijnde diapauze-inhibitoren die de produktie van nauplii uit cysten van branchiopoden stimuleren bij latere inkubatie in gunstige kondities : osmotische schokken bij Branchipus (Mathias en Bouat, 1974), droging bij Artemia (Dutrieu, 1960) en bij Triops (Klekowskii en Hempel-Zawitkowska, 1968), UV-radiatie bij Triops (Hempel-Zawitkowska, 1970), invriezen bij Artemia (Hempel-Zawitkowska, 1971a) en bij Triops (Hempel-Zawitkowska, 1971b), en verder bij Artemia: magnetische velden (Dolgopol'skaya et al., 1969), ionaire radiatie (Metalli en Ballardin, 1972) blootstelling aan organische solventen (Tazawa en Iwanami, 1974) en kosmische straling (Planel et al., 1975 ; Blanquet et al., 1977). De vaststelling dat een verhoogde ontluiking bereikt wordt na een extra dehydratatie (Barigozzi, 1949 ; Clegg, 1964 ; Morris, 1971) en na belichting, bestraling of extra koeling is een aanwijzing dat niet alle cysten vooraf voldoende geactiveerd waren. De ontluiking van een gedeelte der cysten in duisternis (Sorgeloos, 1973) zou kunnen verklaard worden door een partiële diapauze-inhibitie van de gedroogde cysten.

Konkluderend kunnen we stellen dat verdere studie op dit gebied noodzakelijk is om tot een beter inzicht te komen van de mechanismen die instaan voor de diapauze-inhibitie. Dit kan dan leiden tot aangepaste en verbeterde verwerkingstechnieken om zelfs in duisternis een maximale ontluiking te verzekeren. Intussen dient echter een minimale lichtintensiteit van 1000 lux aanbevolen te worden om een optimale ontluiking met maximale snelheid te garanderen voor de diverse geografische rassen van Artemia.

8.5.2. De ontluikingssnelheid van diverse Artemia-rassen en-cystenmonsters

Hoewel er reeds indicaties zijn dat de ontluikingssnelheid net zoals het ontluikingsrendement kan variëren tussen de Artemia-rassen (Sorgeloos en Persoone, 1975 ; Person-Le Ruyet en Salaun, 1977 ; Smith et al., 1978), is het nog niet duidelijk in hoeverre dit kenmerk rasspecifiek is of afhan-

kelijk is van andere factoren zoals de voorgeschiedenis der cysten. Ten einde deze problematiek te ontrafelen, werd aandacht besteed aan de variabiliteit van de ontluikingsnelheid tussen diverse geografische Artemia-rassen en tussen diverse monsters van eenzelfde geografische oorsprong.

De belangrijkste tijdstippen tijdens het ontluikingsproces van diverse Artemia-rassen zijn samengevat in Tabel XLVI. Het is duidelijk dat het verloop van de ontluiking aanzienlijk kan verschillen van ras tot ras en dit voor wat betreft :

- de aanvang van de ontluiking die varieert van een minimum van 13,8 h na de inkubatie voor de cysten van Bahia Salinas tot een maximum van 34 h voor de cysten van Tuticorin
- de synchronie van de ontluiking die schommelt van 4,4 h voor het cystemonster van Macau tot 17,3 h voor Chaplin Lake-cysten

Bovendien is er geen verband te leggen tussen het aanvangstijdstip van de ontluiking en de synchronie. Zo start de ontluiking van Chaplin Lake- en Great Salt Lake-cysten ongeveer gelijktijdig ; hun T90 waarden verschillen echter met meer dan 11 h. Anderzijds komen de eerste Shark Bay-nauplii ruim 4 h later te voorschijn dan de eerste Tientsin-nauplii en het verschil van de T90 is teruggelopen tot minder dan 1 h.

Voor wat het gebruik van Artemia in de aquakultuur betreft lijken de meeste bestudeerde rassen geen probleem te stellen voor het toepassen van een eenvoudig tijdschema voor de dagelijkse inkubatie der cysten en oogst der nauplii. Enkel de monsters van Galera Zamba, Port Araya en Tuticorin zijn door hun lange inkubatietijd problematisch in dit opzicht. Bij de rassen met een geringe synchronie van ontluiking, bvb. Chaplin Lake en Port Araya is de oogst van een homogene populatie instar I-nauplii met een maximale energie-inhoud bemoeilijkt, daar op het tijdstip waarop alle larven tot ontluiking zijn gekomen reeds een deel der nauplii tot het instar II-stadium overgaan zijn.

Er kan geen relatie genoteerd worden tussen de ontluikingsnelheid en de indeling der diverse "sibling species" van Artemia. Evenmin kan de ontluikingsnelheid gekorreleerd worden met de biometrische kenmerken der cysten of met het energieverbruik gedurende het ontluikingsproces. Dit suggereert dat de ontluikingsnelheid niet direkt afhankelijk is van de energie-inhoud der cysten.

Tabel XLVI. Karakteristieke tijdstippen tijdens het ontluikingsproces voor diverse geografische rassen van Artemia.

Geografische oorsprong	T0	T50	T90	Ts
San Francisco Bay	15,0	17,6	20,5	5,0
Macau	15,7	19,7	23,7	6,8
Barotac Nuevo	14,7	18,8	22,0	6,3
San Pablo Bay	13,9	17,3	20,1	5,0
Great Salt Lake	14,1	17,5	21,7	7,0
Chaplin Lake	14,3	22,4	33,0	17,3
Buenos Aires	16,1	19,7	22,6	5,3
Bahia Salinas	13,8	16,6	20,1	5,8
Galera Zamba	27,8	32,5	37,5	8,9
Port Araya	21,4	34,4	39,8	15,0
Shark Bay	20,3	23,8	28,1	7,0
Tientsin	16,0	21,0	27,2	10,1
Lavalduc	19,5	24,4	30,5	10,0
Tuticorin	34,0	43,6	48,3	10,4
Margherita di Savoia	18,7	22,3	25,3	5,3

De relatief geringe verschillen in ontluikingssnelheid tussen de cysten van San Francisco Bay Macau en Barotac Nuevo konden geen uitsluitel brengen omtrent het al dan niet rasspecifiek karakter van dit kenmerk. De vergelijkende studie van diverse monsters van eenzelfde geografische oorsprong leverde echter wel evidentie op voor de hypothese dat de ontluikingsnelheid niet rasspecifiek is. Uit de resultaten vermeld in Tabel XLVII en voorgesteld in Fig. 42 blijken immers ruime verschillen voor te komen tussen de diverse monsters van beide rassen.

Tabel XLVII. Karakteristieke tijdstippen tijdens het ontluikingsproces voor diverse cystenmonsters van San Francisco Bay en Macau

Cystenmonster	T0	T50	T90	Ts
San Francisco Bay (288-2596)	15,0	17,6	20,5	5,0
(288-2606)	16,4	19,0	23,2	6,3
(236-2016)	25,8	32,6	37,6	9,2
Macau (mei 1978)	16,4	19,8	21,9	4,4
(87500)	16,0	23,3	29,1	13,1
(872112)	15,7	19,5	24,5	8,2
(871172)	15,7	19,7	23,7	6,8

Voor de monsters van Macau blijft het aanvangstijdstip van de ontluiking relatief konstant. Het tijdstip waarop 90 % van de cysten tot ontluiking gekomen zijn, loopt echter uiteen van 21,9 tot 29,1 h na de inkubatie. De synchronie verschilt eveneens van monster tot monster. Hetzelfde geldt voor de monsters van San Francisco Bay. In dit geval is vooral de T0 aan grote schommelingen onderhevig.

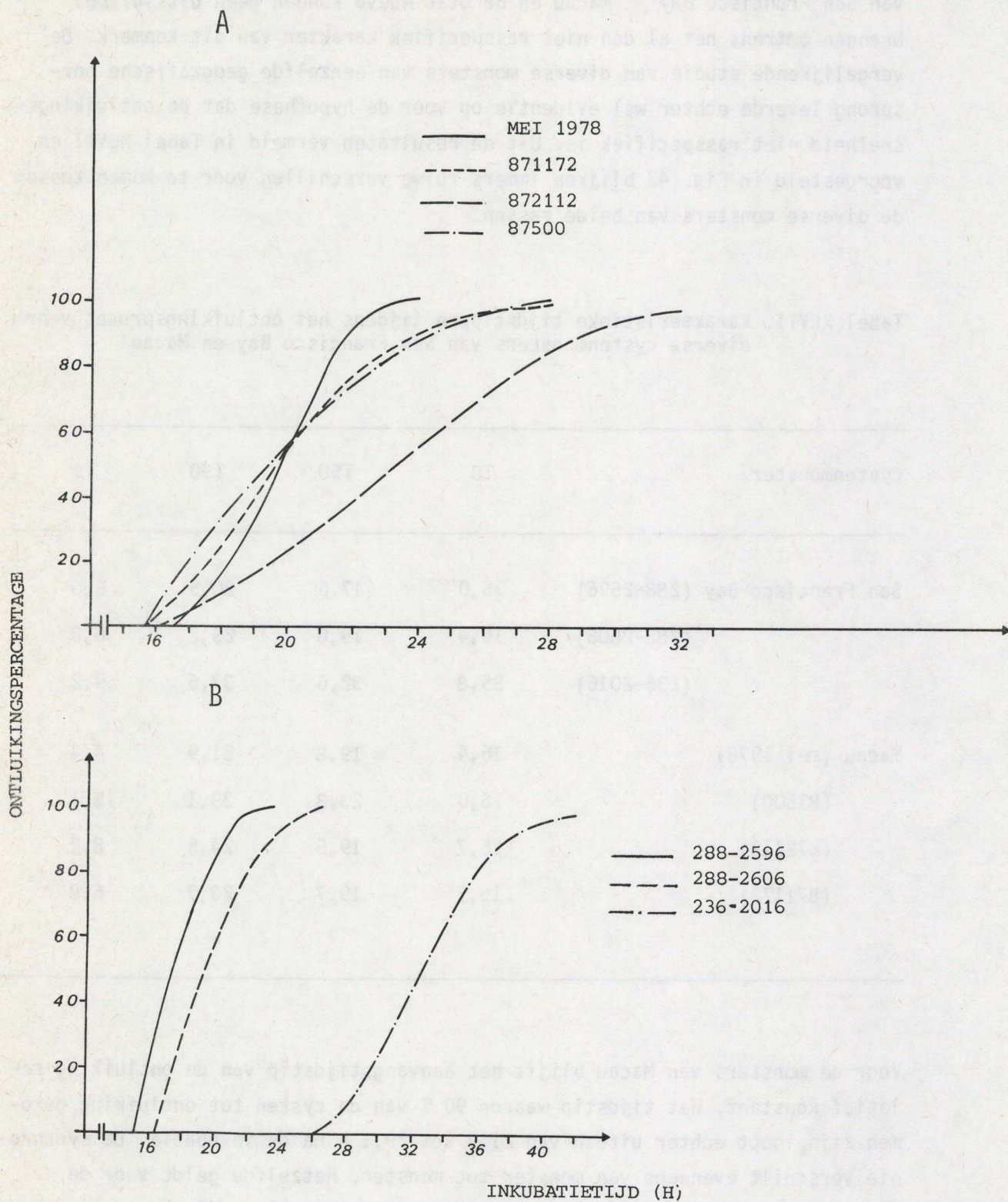


Fig.42. De ontluikingskurven van diverse cystenmonsters van Macau (A) en San Francisco Bay (B)

De verschillen tussen de monsters van eenzelfde ras kunnen te wijten zijn aan temporele variaties ten gevolge van wijzigingen in de abiotische en biotische kondities in het biotoop. Sarasquete (1979) en Bohra (1980) hebben immers variaties in ontluikingssnelheid gerapporteerd in functie van het seizoen waarin de cysten geproduceerd worden. De verschillen kunnen echter ook te wijten zijn aan de oogstmethode. Zoals eerder in dit hoofdstuk reeds is vermeld, kunnen de cysten die op de oevers aanspoelen onderhevig zijn aan herhaalde hydratatie-dehydratatiecycli. Volgens Morris (1971), Sorgeloos et al., (1976) en Benijts et al. (1977) kunnen deze de ontluikings-snelheid beïnvloeden. In functie van bijvoorbeeld de tijdsparre tussen 2 oogstperioden en de klimatologische omstandigheden kunnen aldus verschillen ontstaan in ontluikingsduur tussen de verzamelde cystemonsters.

8.5.3. De invloed van de droog- en stockeringsmethoden op de ontluikings-snelheid

De invloed van de droogmethode werd onderzocht voor deelmonsters van een homogeen lot Lavalduc-cysten, na de oogst onmiddellijk in pekcl ge-stockeerd en na zuivering (zie Hoofdstuk 4.3.4) onder de volgende omstandigheden gedroogd :

- "fluidized bed"-droger ; 35-40°C
- droogoven ; 30°C , laagdikte 0,5 cm
- droogoven ; 38°C , laagdikte 0,5 cm

De ontluikingssnelheid werd bepaald onmiddellijk na het drogen en na 1 maand stockering onder vakuum.

Uit de ontluikingskurven (Fig 43) en de karakteristieke tijdstippen tijdens de ontluiking (Tabel XLVIII) blijkt dat zich slechts minieme verschillen voordoen tussen de onbehandelde controlecysten en deze gedroogd in een "fluidized bed"-droger. Bovendien blijkt de stockering gedurende 1 maand de ontluikingssnelheid van aldus gedroogde cysten niet te beïnvloeden. De cysten gedroogd in een droogoven daarentegen komen aanvankelijk sneller tot ontluiking dan de controle-cysten en dit meer uitgesproken bij de laagste temperatuur. Na 1 maand bewaring onder vakuum daarentegen is de ontluiking echter significant vertraagd.

Deze resultaten kunnen verklaard worden aan de hand van de bevindingen van Morris (1971), Sorgeloos et al., (1976) en Benijts et al. (1977). Deze auteurs stelden inderdaad vast dat het effect van een hydratatie (de spoeling

Tabel XLVIII. De invloed van de droogmethode op de ontluikingsnelheid der nauplii in funktie van de stockeringsduur

Droogmethode	Stockerings- duur (dagen)	T0	T50	T90	Ts
Kontrole		20,1	24,3	30,2	9,3
"Fluidized bed"-droger	0	19,5	24,4	30,5	10,0
	30	20,1	24,7	31,3	10,3
Droogoven (38°C/0,5cm)	0	18,4	22,2	27,9	8,8
	30	22,1	28,8	33,8	9,8
Droogoven (30°C/0,5cm)	0	17,5	21,4	27,0	8,8
	30	22,8	29,2	34,2	9,7

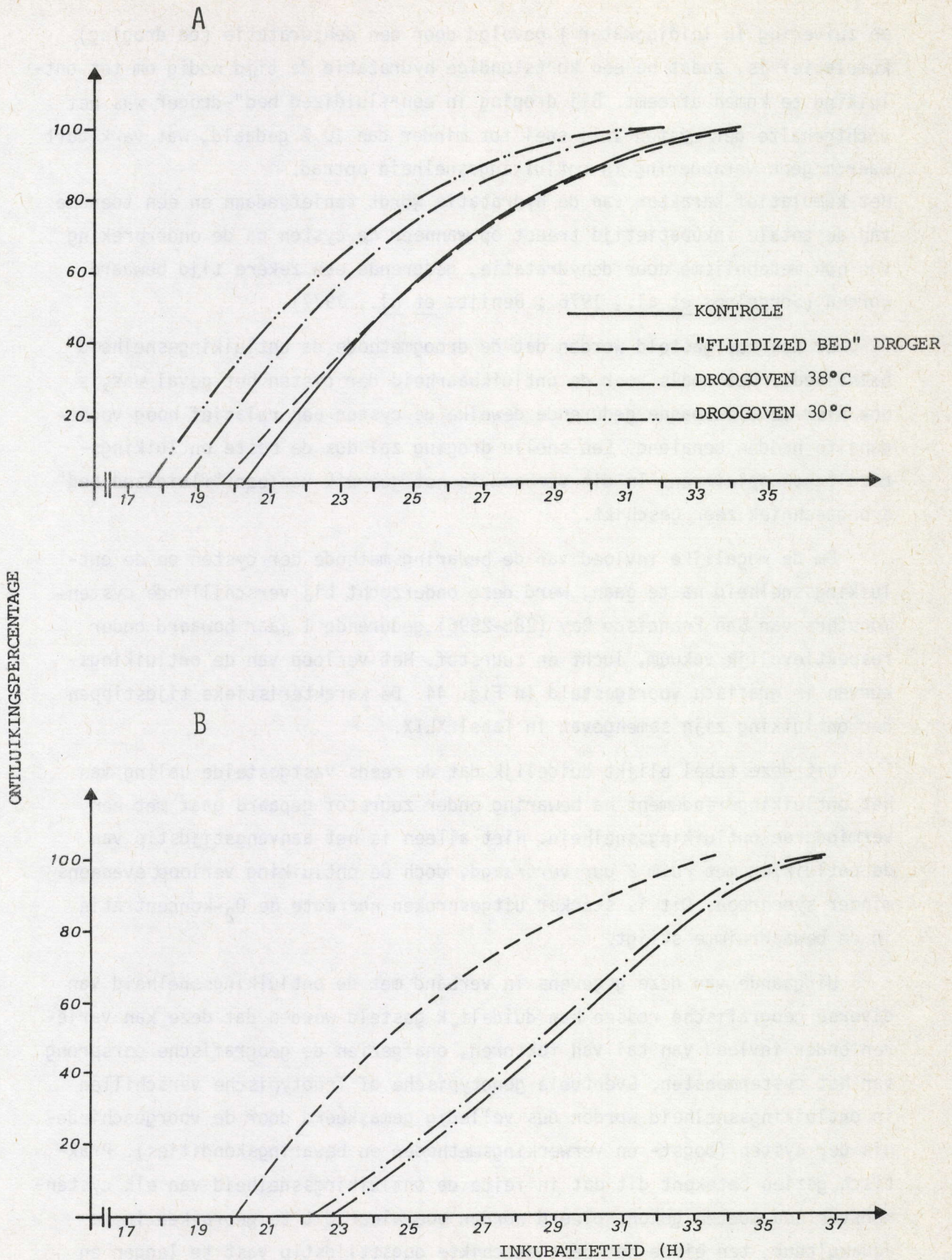


Fig.43. De invloed van de drogingscondities op de ontluikingsnelheid van Artemia-cysten geïnkubeerd onmiddellijk na drogen (A) en na 1 maand stockering onder vacuüm (B)

en zuivering in leidingwater) gevolgd door een dehydratatie (de droging) kumulatief is, zodat na een kortstondige hydratatie de tijd nodig om tot ontluiking te komen afneemt. Bij droging in een "fluidized bed"-droger was het vochtgehalte der cysten vrij snel tot minder dan 10 % gedaald, wat verklaart waarom geen verandering in ontluikingssnelheid optrad.

Het kumulatief karakter van de hydratatie wordt tenietgedaan en een toename van de totale inkubatietijd treedt op wanneer de cysten na de onderbreking van hun metabolisme door dehydratatie, gedurende een zekere tijd bewaard worden (Sorgeloos et al., 1976 ; Benijts et al., 1977).

Er kan dus gesteld worden dat de droogmethode de ontluikingssnelheid beïnvloedt. Net zoals voor de ontluikbaarheid der cysten het geval was, is ook hier de tijdspanne gedurende dewelke de cysten een relatief hoog vochtgehalte hadden bepalend. Een snelle droging zal dus de beste ontluikingsresultaten opleveren. In dit verband is het gebruik van een "fluidized bed" droogtechniek zeer geschikt.

Om de mogelijke invloed van de bewaringsmethode der cysten op de ontluikingssnelheid na te gaan, werd deze onderzocht bij verschillende cystenmonsters van San Francisco Bay (288-2596), gedurende 1 jaar bewaard onder respektievelijk vakuum, lucht en zuurstof. Het verloop van de ontluikingskurven is grafisch voorsgesteld in Fig. 44. De karakteristieke tijdstippen der ontluiking zijn samengevat in Tabel XLIX.

Uit deze tabel blijkt duidelijk dat de reeds vastgestelde daling van het ontluikingsrendement na bewaring onder zuurstof gepaard gaat met een verminderde ontluikingssnelheid. Niet alleen is het aanvangstijdstip van de ontluiking met ruim 2 uur vertraagd, doch de ontluiking verloopt eveneens minder synchroon. Dit is sterker uitgesproken naarmate de O_2 -concentratie in de bewaarruimte stijgt.

Uitgaande van deze gegevens in verband met de ontluikingssnelheid van diverse geografische rassen kan duidelijk gesteld worden dat deze kan variëren onder invloed van tal van factoren, onafgezien de geografische oorsprong van het cystenmonster. Eventuele genotypische of fenotypische verschillen in ontluikingssnelheid worden dus volledig gemaskeerd door de voorgeschiedenis der cysten (oogst- en verwerkingsmethoden en bewaringskondities). Praktisch gezien betekent dit dat in feite de ontluikingssnelheid van elk cystenmonster zou moeten gecontroleerd worden vooraleer dit te gebruiken in de aquakultuur, ten einde het best geschikte oogsttijdstip vast te leggen en zodoende een optimaal gebruik van de cysten te garanderen.

Tabel XLIX. Karakteristieke tijdstippen tijdens de ontluiking van Artemia-cysten (San Francisco Bay, monster nr. 288-2596) gedurende 1 jaar onder diverse kondities gestockeerd

Stockeringskondities	T0	T50	T90	Ts
Vakuum	15,0	17,5	20,5	5,5
Lucht	16,9	20,5	25,0	7,3
Zuurstof	17,3	21,0	26,2	8,2

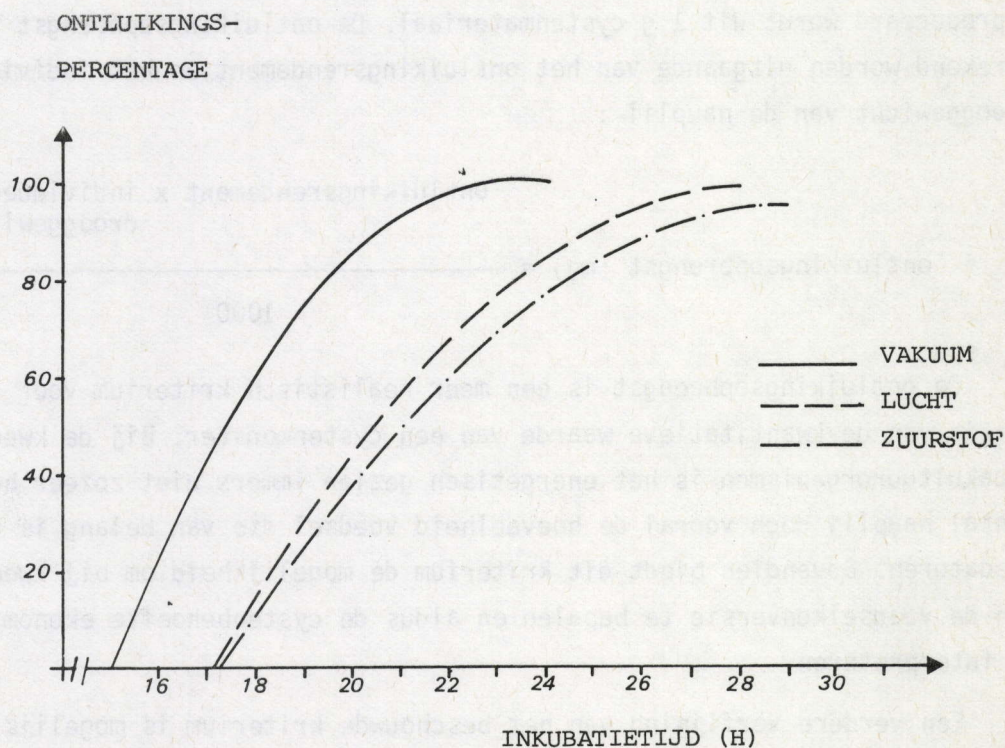


Fig.44. De invloed van de stockeringskondities op de ontluikings-snelheid van Artemia-cysten

8.6. De evaluatie van de ontluikingskwaliteit

8.6.1. Het concept ontluikingsopbrengst

Zoals aangestipt in de inleiding van dit hoofdstuk, is het ontluikingsrendement vooralsnog het meest betrouwbare criterium ter evaluatie van de ontluikingskwaliteit van Artemia-cystenmonsters. Uit onze studie in verband met de biometrische kenmerken der nauplii is echter gebleken dat het individueel gewicht der pas ontloken nauplii verschilt van ras tot ras. Dit betekent dat het ontluikingsrendement, dat enkel het aantal nauplii geproduceerd per gewichtseenheid cysten in rekening brengt, zijn beperkingen inhoudt voor de vergelijking van de ontluikingskwaliteit van diverse Artemia-rassen ; meer bepaald wordt de geproduceerde voedselhoeveelheid van Artemia-rassen met grote nauplii onderschat.

In dit kader en met het oog op het stijgend aantal commercieel geëxploiteerde Artemia-rassen stellen we de introductie van het criterium ontluikingsopbrengst voor ter evaluatie van de ontluikingskwaliteit. Dit criterium kan gedefinieerd worden als de nauplius-biomassa (uitgedrukt in mg droge stof) die onder standaard-ontluikingskondities (25°C - 35 ‰) geproduceerd wordt uit 1 g cystenmateriaal. De ontluikingsopbrengst kan berekend worden uitgaande van het ontluikingsrendement en het individueel drooggewicht van de nauplii :

$$\text{ontluikingsopbrengst (mg)} = \frac{\text{ontluikingsrendement} \times \text{individueel drooggewicht (\mu g)}}{1000}$$

De ontluikingsopbrengst is een meer realistisch criterium voor de evaluatie van de kwantitatieve waarde van een cystenmonster. Bij de kweek van aquakultuurorganismen is het energetisch gezien immers niet zozeer het aantal nauplii doch vooral de hoeveelheid voedsel die van belang is voor de predatoren. Bovendien biedt dit criterium de mogelijkheid om bij kweekproeven de voedselkonversie te bepalen en aldus de cystenbehoefte economisch te interpreteren.

Een verdere verfijning van het beschouwde criterium is mogelijk door de individuele energie-inhoud in beschouwing te nemen. Aangezien echter voor de

diverse geografische rassen de verschillen in individuele energie-inhoud der instar I-nauplii praktisch uitsluitend de variaties in individueel drooggewicht der nauplii weerspiegelen (zie Hoofdstuk 7.4.1) menen wij dat deze ver-fijning overbodig is.

De evaluatie van de ontluikingskwaliteit van alle commercieel geëxploi-teerde Artemia-rassen aangevuld met de niet of op beperkte schaal gekommer-cialiseerde rassen van Bahia Salinas, Port Araya, Galera Zamba, Manaure, Eilat, Tuticorin en Margherita di Savoia is weergegeven in Tabel L en voorgesteld in Fig. 45. Het is duidelijk dat de volgorde der rassen funktie is van het toegepaste criterium. Bij gebruik van het ontluikingsrendement wordt het beste resultaat bekomen met de cysten van Macau gevolgd door het cystenmateriaal van San Francisco Bay. Op basis van de geproduceerde biomas-sa per g cystenmateriaal komt Macau slechts op de derde plaats vooraf-gegaan door de cystenmonsters van Lavalduc en Shark Bay die grotere nauplii (respektievelijk 3,08 en 2,47 μ g) produceren dan Macau-Artemia (1,74 μ g). Fig. 45 laat tevens uitschijnen dat de ontluikingskwaliteit van de kommer-cieel geëxploiteerde Artemia-rassen over het algemeen deze der overige rassen overtreft. Dit getuigt van de grotere aandacht die de cystenverdelers de laatste jaren schenken aan de kwaliteit van de door hen verdeelde cysten. Enkel de monsters van Chaplin Lake en Great Salt Lake vallen min of meer uit de toon. Voor wat dit laatste ras betreft dient opgemerkt te worden dat het meer recent op de markt gebrachte cystenmonster (1979 - monster nr 185) reeds een ontluikingsopbrengst van 467 mg opleverde ; dit grotendeels als gevolg van de verbeterde zuiveringstechnieken (Sanders, per. meded.).

Dit laatste gegeven wijst er tevens op dat de ontluikingsopbrengst geen rasspecifiek gegeven is. De variaties tussen monsters van eenzelfde geogra-fische oorsprong zijn het gevolg van de variabiliteit van de ontluikbaar-heid der cysten en de zuiverheidsgraad van de diverse monsters, t.t.z. varia-biliteit in ontluikingsrendement. Dit impliceert dat voor de kwaliteitseva-luatie elk nieuw cystenmonster dient onderworpen te worden aan een bepaling van het ontluikingsrendement. Het individueel gewicht der nauplii is nochtans rasgebonden (zie Hoofdstuk 7.4.1). Dit betekent dat bij de bepaling van de ontluikingsopbrengst gebruik kan gemaakt worden van de gewichtsgegevens ver-meld in Tabel XXVII in hoofdstuk 7.4.1. Desgevallend kan het drooggewicht tevens geschat worden uitgaande van de korrelatie tussen de cystenafmetingen en het individueel drooggewicht der nauplii (Fig. 34 in Hoofdstuk 7.4.1).

Tabel L. De evaluatie van de ontluikingskwaliteit van diverse Artemia-cysten-monsters aan de hand van 2 verschillende criteria

Geografische oorsprong	Ontluikingsrendement (nauplii/ g cysten)	Ontluikingsopbrengst (mg naupliusbiomassa/ g cysten)
San Francisco Bay	267.200	435,5
Macau	304.000	529,0
Barotac Nuevo	214.000	359,5
San Pablo Bay	259.200	497,7
Great Salt Lake (1977)	106.000	256,5
Great Salt Lake (1979)	192.000	467,0
Chaplin Lake (1978)	8.000	15,8
Chaplin Lake (1979)	65.600	133,8
Buenos Aires	193.600	333,0
Bahia Salinas	112.000	235,2
Port Araya	73.600	152,4
Galera Zamba	81.600	185,2
Manaure	51.200	91,1
Eilat	118.400	355,2
Tuticorin	116.800	370,3
Shark Bay	217.600	537,5
Lavalduc	182.400	561,8
Tientsin (1)	129.600	400,5
Tientsin (2)	120.000	371,8
Margherita di Savoia	137.600	458,2

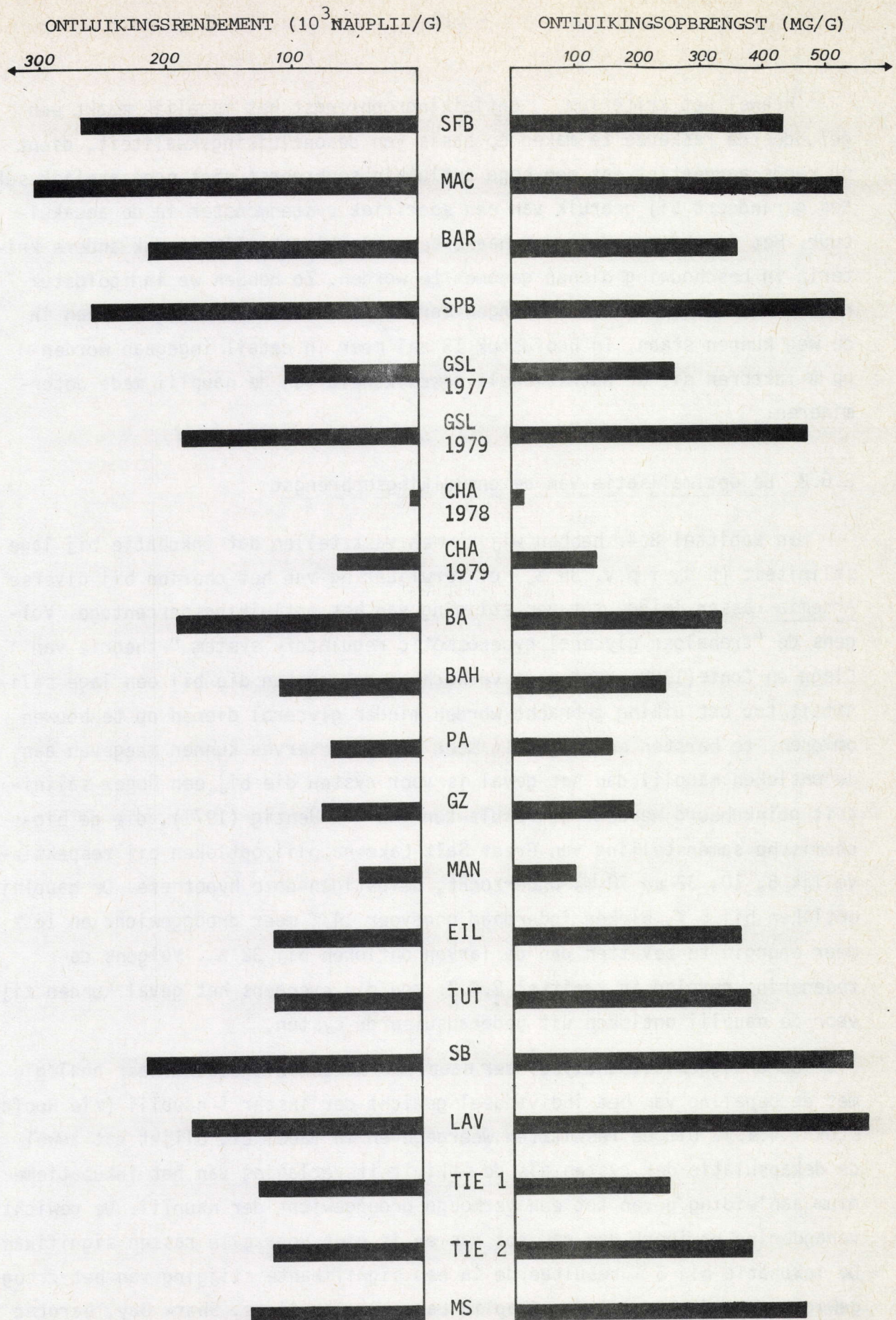


Fig.45. Het ontluijingsrendement en de ontluijingsopbrengst van diverse Artemia-cystenmonsters

Hoewel het criterium ontluikingsopbrengst het mogelijk maakt een gefundeerde raskeuze te maken op basis van de ontluikingskwaliteit, dient nu reeds aangestipt dat een hoge ontluikingsopbrengst niet noodzakelijk succes garandeert bij gebruik van een specifiek cystenmonster in de aquakultuur. Het is inderdaad zo dat naast de ontluikingskwaliteit ook andere criteria in beschouwing dienen genomen te worden. Zo hebben we in hoofdstuk 7 reeds aangetoond dat de afmetingen der nauplii de opnamemogelijkheden in de weg kunnen staan. In hoofdstuk 13 zal meer in detail ingegaan worden op de factoren die de nutritionele geschiktheid van de nauplii mede determineren.

8.6.2. De optimalisatie van de ontluikingsopbrengst

In kapittel 8.4. hebben wij kunnen vaststellen dat inkubatie bij lage saliniteit (5 ‰ i.p.v. 35 ‰) of verwijdering van het chorion bij diverse Artemia-rassen leidde tot een stijging van het ontluikingspercentage. Volgens de "trehalose glycerol hyperosmotic regulatory system" theorie van Clegg en Conte(1980) kunnen we verwachten dat cysten die bij een lage saliniteit tot ontluiking gebracht worden minder glycerol dienen op te bouwen om open te barsten en bijgevolg meer energiereserves kunnen meegeven aan de ontloken nauplii dan het geval is voor cysten die bij een hoger saliniteit geïnkubeerd werden. De resultaten van Von Hentig (1971), die de biochemische samenstelling van Great Salt Lake-nauplii, ontloken bij respectievelijk 5, 10, 32 en 70 ‰ onderzocht, bevestigen deze hypothese. De nauplii ontloken bij 5 ‰ bleken inderdaad ongeveer 14 % meer drooggewicht en 16 % meer energie te bevatten dan de larven ontloken bij 32 ‰. Volgens de redenering gevolgd in kapittel 8.4.2. zou dit eveneens het geval kunnen zijn voor de nauplii ontloken uit gedekapsuleerde cysten.

De drooggewichtsanalyses der nauplii werden uitgevoerd naar analogie met de bepaling van het individueel gewicht der instar I-nauplii (zie Hoofdstuk 7.4.1.). Uit de resultaten weergegeven in Tabel LI, blijkt dat zowel de dekapsulatie der cysten als de saliniteitsverlaging van het inkubatiemedium aanleiding geven tot een verhoogd drooggewicht der nauplii. De gewichtsverandering varieert van ras tot ras en is niet voor alle rassen significant. De inkubatie bij 5 ‰ resulteerde in een significante stijging van het drooggewicht voor de nauplii van Chaplin Lake, Buenos Aires, Shark Bay, Barotac Nuevo en San Pablo Bay. De dekapsulatie der cysten had een significante

Tabel LI. De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium en de dekapsulatie der cysten op het individueel drooggewicht (gemiddelde \bar{X} , standaarddeviatie s in μg) der instar I-nauplii van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	35 ‰		5 ‰		Procentueel verschil	Na dekapsulatie		Procentueel verschil
	\bar{X}	s	\bar{X}	s		\bar{X}	s	
San Francisco Bay	1,63	0,11	1,73	0,08	+ 6,1	1,74	0,09	+ 6,7
Macau	1,74	0,08	1,76	0,11	+ 1,1	1,78	0,05	+ 2,3
Barotac Nuevo	1,68	0,03	1,78	0,07	+ 5,9 *	1,79	0,06	+ 6,5 *
San Pablo Bay	1,92	0,08	2,02	0,06	+ 5,2 *	1,99	0,05	+ 3,6
Great Salt Lake	2,42	0,11	2,35	0,09	- 2,5	2,36	0,12	- 2,1
Chaplin Lake (1978)	1,97	0,13	2,18	0,14	+ 10,7 *	2,05	0,09	+ 4,1
Chaplin Lake (1979)	2,04	0,18	2,28	0,10	+ 11,8 *	2,14	0,05	+ 4,9
Buenos Aires	1,72	0,07	1,88	0,09	+ 9,3 *	1,90	0,10	+ 10,5 *
Galera Zamba	2,27	0,08	2,27	0,10	0,0	2,26	0,15	- 0,4
Shark Bay	2,47	0,13	2,64	0,10	+ 6,9 *	2,61	0,15	+ 5,7
Tientsin (1)	3,09	0,11	3,07	0,12	- 0,6	3,05	0,15	- 1,3
Tientsin (2)	3,14	0,13	3,15	0,14	+ 0,3	3,10	0,13	- 1,3
Lavalduc	3,08	0,16	3,05	0,12	- 1,0	3,07	0,09	- 0,3
Margherita di Savoia	3,33	0,18	3,40	0,09	+ 2,1	3,60	0,23	+ 8,1 *

* significant verschillend op het 0,05 -niveau

toename in drooggewicht tot gevolg voor de nauplii van Buenos Aires, Barotac Nuevo en Margherita di Savoia. In tegenstelling tot de resultaten van Von Hentig (1971) kon hier geen toename in individueel drooggewicht genoteerd worden voor de Great Salt Lake-nauplii.

Bij de rassen van Galera Zamba en Chaplin Lake die een grote en significante stijging in ontluikbaarheid kenden onder invloed van de chorionverwijdering kon geen significante verhoging van het naupliusgewicht genoteerd worden. In dit verband kan opgemerkt worden dat het niet onwaarschijnlijk is dat de supplementaire nauplii die ontloken zijn ten gevolge van de dekapsulatie, een lager drooggewicht hebben dan deze die zonder behandeling te voorschijn komen, wat uiteraard het gemiddelde individueel gewicht naar beneden haalt.

Het geheel van de vaststellingen in verband met de invloed van de dekapsulatie der cysten vóór inkubatie of van de inkubatie der cysten in een medium met lage saliniteit laat toe te besluiten dat beide technieken voor de aquakultuur-kwekerijen verreichende gevolgen kunnen hebben :

- de produktie van een groter aantal nauplii per gewichtseenheid cysten
- de produktie van nauplii met een hoger individueel gewicht, wat betekent dat de predatoren proportioneel minder nauplii moeten opnemen om aan hun metabolische behoeften te voldoen

Konkreet betekent dit dat de toepassing van deze technieken een verhoogde ontluikingsopbrengst kan verzekeren. De omvang van de verbeterde ontluikingskwaliteit voor diverse Artemia-rassen blijkt uit Tabel LII en Fig. 46. Hierbij werd de ontluikingsopbrengst bij inkubatie in 5 ‰ of na dekapsulatie berekend volgens de formule :

$$\begin{aligned} \text{ontluikingsopbrengst mg} &= \frac{\text{OP } 5 \text{ ‰}}{\text{OP } 35 \text{ ‰}} \times \text{OR} && \text{of} \\ &= \frac{\text{OP dekaps.}}{\text{OP } 35 \text{ ‰}} \times \text{OR} \end{aligned}$$

waarbij OP = ontluikingspercentage
OR = ontluikingsrendement

De mogelijkheid bestaat dus om in functie van het gebruikte cystenmonster min of meer belangrijke besparingen uit te voeren op de benodigde kwan-

Tabel LII. De invloed van de saliniteit van het inkubatiemedium en de dekapsulatie der cysten op de ontluikingsopbrengst voor diverse geografische rassen van Artemia

Geografische oorsprong	Ontluikingsopbrengst : mg DS nauplii/g cysten (procentuele toename)			
	35 ‰	5 ‰	Gedekapsuleerd - 35 ‰	
San Francisco Bay	435,5	440,2	(1,1)	534,6 (22,8)
Macau	529,0	563,7	(6,6)	603,8 (14,1)
Barotac Nuevo	359,5	400,9	(11,5)	426,3 (18,6)
San Pablo Bay	497,7	544,1	(9,3)	555,6 (11,6)
Great Salt Lake	256,5	257,0	(0,2)	311,1 (21,3)
Chaplin Lake (1978)	15,8	71,8	(354,4)	54,2 (243,0)
Chaplin Lake (1979)	133,8	400,4	(199,3)	326,1 (143,7)
Buenos Aires	333,0	424,2	(27,4)	494,9 (48,6)
Galera Zamba	185,2	202,7	(9,4)	210,1 (13,4)
Shark Bay	537,5	563,3	(4,8)	590,0 (9,8)
Tientsin (1)	400,5	406,0	(1,4)	409,8 (2,3)
Tientsin (2)	371,8	371,9	(0,0)	386,4 (3,9)
Lavalduc	561,8	566,6	(0,8)	570,3 (1,5)
Margherita di Savoia	458,2	463,0	(1,0)	544,1 (18,7)

5 ‰

DEKAPSULATIE

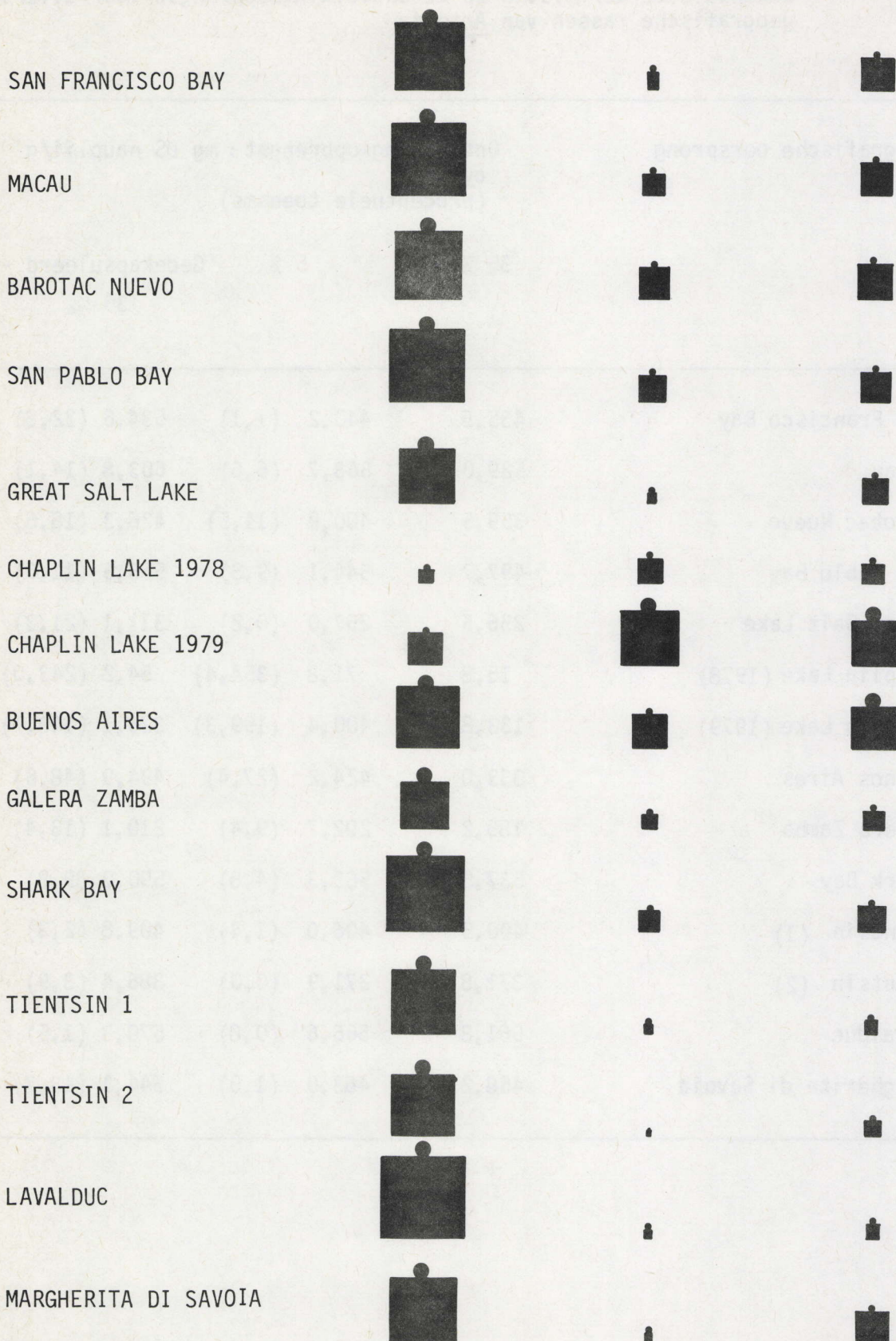


Fig.46. De toename van de ontluikingsopbrengst der cysten van diverse geografische oorsprong na inkubatie bij 5‰ of dekapsulatie der cysten

titeit cysten in de aquakultuur. Uit de resultaten van de monsters van Chaplin Lake en Tientsin blijkt verder dat het effect binnen een ras kwalitatief konstant blijft doch kwantitatief gezien kan variëren.

8.7. Konklusies in verband met de verbeterde toepassingsmogelijkheden in de aquakultuur

Een recent gehouden enquête heeft uitgewezen dat de ontluikingskwaliteit nog steeds het grootste belang toegemeten krijgt in de aquakultuurcentra bij de selectie van Artemia-cystenmonsters (Sorgeloos, 1983). Dit kon enigszins verwacht worden daar precies dit criterium bepaalt welke kwantiteit voedsel kan bekomen worden uit het cystenmateriaal.

Terwijl enkele jaren terug de ontluikingskwaliteit van de commerciële cystenmonsters in vele gevallen op een laag pitje stond (Smith et al., 1978 ; Sorgeloos et al., 1978a), zijn de cystenverdelers mede door het toenemend aanbod van cysten van diverse lokaliteiten dan ook meer aandacht gaan besteden aan de kwaliteit van hun produkt. Het ontluikingskriterium is recent zelfs als konkurrentiemiddel gebruikt (Dye, 1980 ; Prescott, 1980 ; Sorgeloos, 1983). In dit verband heeft onze studie van de ontluikingskarakteristieken van Artemia-rassen in de eerste plaats aan het licht gebracht dat gezien de meeste ontluikingskarakteristieken niet rasgebonden zijn, de uiteindelijke ontluikingskwaliteit in hoofdzaak afhankelijk is van de voorgeschiedenis der cysten. De producent kan dus zelf grotendeels instaan voor de kwaliteit van het cystenmateriaal.

Het onderzoek van de factoren die de ontluikingskenmerken van de cysten mede bepalen of beïnvloeden stelt ons in staat de volgende bevindingen naar voor te brengen, die kunnen bijdragen tot de aflevering van een hoogwaardig cystenprodukt aan de verbruiker :

- in het licht van de mogelijke daling van de ontluikbaarheid en wijziging van de ontluikingssnelheid bij hydratatie gevolgd door dehydratatie valt het aan te raden de cysten niet op de oevers doch van het wateroppervlak te oogsten en dit op regelmatige tijdstippen;
- de cysten kunnen gezuiverd worden volgens het principe beschreven door Sorgeloos et al. (1978a). Hierbij is het aan te raden de duur van de behandeling in zoetwater tot een minimum te beperken (minimale hydratatie) en gekoeld water te gebruiken (trager metabolisme);

- de droging van de cysten dient afgestemd te zijn op een vlugge dehydratatie. Hierbij is het gebruik van een "fluidized bed" droger aan te raden. Indien zo'n droogtoestel niet beschikbaar is doet men er goed aan de laagdikte der cysten te beperken en een goede ventilatie te verzekeren ;
- de stockering der cysten gebeurt preferentieel onder vacuüm of onder stikstof. Op die manier blijft de leefbaarheid der embryo's gedurende jaren maximaal ;
- in het geval van gedekapsuleerde cysten kan het gebruik van diatomeeën zowel de individualisering der cysten als het behoud van de ontlukbaarheid veilig stellen bij droging ;
- het gebruik van $MgCl_2$ vormt het betere alternatief voor NaCl bij de bewaring van niet gedroogde gedekapsuleerde cysten.

Ter illustratie van het belang van deze richtlijnen kunnen we de ontlukingsopbrengst citeren van het Lavalduc-monster dat wij zelf verwerkt hebben. Zoals blijkt uit Tabel L overtreft de ontlukingskwaliteit van dit monster inderdaad de waarde bekomen voor alle andere cystenmonsters.

Met het oog op de hoge kostprijs van Artemia-cysten is niet alleen de toelevering van een kwaliteitsprodukt maar ook het efficiënt en economisch gebruik van de cysten aan te raden. In deze context kunnen de volgende besluiten een belangrijke bijdrage leveren voor de konsument om het cystenmateriaal optimaal te benutten :

- een lichtintensiteit van 1000 lux gedurende de inkubatie is nodig om voor alle cystenmonsters een optimaal ontlukingsrendement en een maximale ontlukingssnelheid te garanderen ;
- de inkubatie bij een lage saliniteit (5 ‰) resulteert voor diverse geografische rassen in een niet onaanzienlijke meeropbrengst aan voedsel ;
- de chorionverwijdering der cysten leidt voor de meeste Artemia-rassen tot een duidelijke toename van de ontlukingsopbrengst ;
- de optimale ontlukingstemperatuur is voor praktisch alle Artemia-rassen bereikt bij 25°C.

Tenslotte konden we aan de hand van onze bevindingen nieuwe criteria opstellen die zowel de producent als de konsument in staat stellen de ontlukingskwaliteit na te gaan :

- de ontluikingsopbrengst
- de ontluikingssnelheid en -synchronie

Deze criteria vormen tevens voor de gebruiker een mogelijke basis voor de selectie van hoogwaardige Artemia-cystenmonsters. Het spreekt vanzelf dat de ontluikingswaarde stijgt naarmate de ontluikingsopbrengst toeneemt. Voor het vastleggen van een praktisch tijdschema van inkubatie en oogst evenals voor een optimale benutting van de energierijke nauplii zou de ontluiking dienen aan te vangen 15 tot 20 h na de inkubatie en zou de totale tijdspanne van de ontluiking niet meer dan 10 h mogen bedragen.

HOOFDSTUK 9. DE LEEFBAARHEID VAN NIET GEVOEDE NAUPLII

Niet zelden worden de nauplii van het pekelkreeftje na de ontluiking nog enkele dagen gestockeerd vooraleer ze aan de predator vervoederd worden (Jones, 1972 ; Tabb et al., 1972 ; Salser en Mock, 1974). Veelal worden ze ook slechts om de 24 à 72 h toegediend, zodat ze geruime tijd in het kweekmedium kunnen verblijven vooraleer opgenomen te worden (Wickins, 1972). Recent hebben wij nog kunnen vaststellen dat dit vooral bij de kweek van larvale crustaceën nog steeds het geval is. Zoals is aangestipt in hoofdstuk 7.4.2. heeft deze werkwijze tot gevolg dat de nauplii vervellen, dat hun gewicht en energie-inhoud afnemen, hun lengte toeneemt en hun zwemactiviteit verhoogd. Daarenboven kan zelfs een gedeelte der nauplii afsterven vooraleer ze kunnen opgenomen worden (Forster en Wickins, 1972).

Diverse auteurs hebben verschillende overlevingstijden gemeld voor Artemia-nauplii die zonder bijkomende voeding bewaard werden. Jones (1972) stelde vast dat pas ontloken nauplii gedurende 3 dagen in leven kunnen blijven onder goede aëratiekondities en bij een densiteit van 100 individuen per ml. Salser en Mock (1974) rapporteerden eenzelfde overlevingsduur bij een densiteit van 600 nauplii per ml, terwijl volgens Tabb et al. (1972) de nauplii slechts 2 dagen in leven bleven. Volgens Bessac en Mulvehill (pers. meded.) bleken Macau nauplii reeds na 24 h af te sterven in Macrobrachium-kweektanks bij 28-30°C, terwijl San Francisco Bay-nauplii er 2 tot 3 dagen overleefden.

Deze laatste vaststelling doet het vermoeden rijzen dat de leefbaarheid der niet gevoede nauplii varieert van het ene Artemia-ras tot het andere. Deze hypothese wordt nog versterkt op basis van de vaststelling dat het energieverbruik gedurende de ontluiking en de vroege larvale ontwikkeling der nauplii verschillen vertoont tussen diverse Artemia-rassen (zie Hoofdstuk 7.4.). Om die reden werden overlevingsexperimenten uitgewerkt voor de diverse Artemia-rassen. Daar de temperatuurpreferenda niet identisch zijn voor de verschillende Artemia-rassen (Sorgeloos et al., 1976 ; Claus et al., 1977 ; Hoofdstuk 11) en de kweek van aquakultuurorganismen zich over een brede waaier van temperaturen uitstrekt, werden de experimenten in een eerste fase uitgevoerd bij 2 testtemperaturen, namelijk 20° en 30°C. Daar Artemia niet alleen als voedselbron gebruikt wordt voor mariene organismen doch eveneens voor zoetwater predatoren (Huisman, 1974 ; Coche en Bianchi, 1979 ; Von Luckowicz, 1979) werd tevens de overleving der nauplii in zoetwater bestudeerd. Met het oog op de reductie van de werkzaamheden met betrekking tot de inkubatie en oogst der nauplii (zie Hoofdstuk 7.4.3.)

werd tenslotte de invloed van de stockering bij lage temperatuur (2-4°C) op de overleving der nauplii nagegaan.

9.1. De overleving der nauplii in zeewater bij 2 verschillende temperaturen

De overlevingstesten werden uitgevoerd in glazen petriplaatjes gevuld met 10 ml vooraf geëereerd natuurlijk zeewater. In elk petriplaatje werden met behulp van een Pasteurpipet 20 nauplii gebracht. De petriplaatjes werden afgedekt en in een donkere gethermostatiseerde ruimte geplaatst bij respectievelijk 20° en 30°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$). Per ras en per temperatuur werden 3 parallellen opgezet. Het experiment werd 1 maal herhaald in de tijd. Dagelijks bij 20°C en tweemaal daags bij 30°C werd de mortaliteit genoteerd en werden de afgestorven nauplii verwijderd. Enkele zuurstofmetingen op het einde van de proef wezen uit dat de mortaliteit niet kon te wijten zijn aan zuurstofgebrek. Het zuurstofgehalte bedroeg steeds meer dan 70 % van de verzadigingswaarde bij de beschouwde temperatuur.

Aan de hand van de overlevingscijfers werd een tijd-percent mortaliteitskurve uitgezet op logaritmisch-probabiliteitspapier. De "median lethal time" (LT50) werd bepaald volgens de methode van Litchfield (1949). De resultaten van de diverse rassen werden statistisch vergeleken volgens de analysemethode beschreven door Litchfield en Wilcoxon (1949).

De resultaten van de overlevingstesten zijn samengevat in Tabel LIII. In Fig. 47 zijn de LT50 waarden grafisch voorgesteld en is de statistische vergelijking der resultaten weergegeven.

Bij 20°C zijn na 7 dagen praktisch alle larven van de diverse rassen afgestorven. De mortaliteit treedt echter significant vlugger op bij de nauplii van Chaplin Lake en Buenos Aires. De larven van Shark Bay en in mindere mate deze van Barotac Nuevo hebben een significant hogere LT50 in vergelijking tot de andere rassen.

Bij 30°C zijn de meeste larven dood na 3 à 4 dagen. Ook bij deze temperatuur sterven de Chaplin Lake-en Buenos Aires-larven het vlugst af en blijven de Shark Bay-nauplii het langst overleven. Tussen de overige rassen komen geen noemenswaardige verschillen voor. Bij een vergelijking van de LT50-waarden bij 20°C en 30°C kunnen we vaststellen dat de volgorde der rassen slechts weinig verandert. Enkel voor de beide Great Salt Lake-monsters treedt een verschuiving op. Deze larven schijnen het relatief beter te doen bij 30°C.

Tabel LIII. Resultaten (LT50 in h) van de overlevingstesten bij 20° en 30°C

Geografische oorsprong	20°C	30°C
San Francisco Bay	122	58
Macau (mei 1978)	115	64
Macau (871172)	120	62
Barotac Nuevo	135	60
San Pablo Bay	115	61
Great Salt Lake (1966)	105	70
Great Salt Lake (1977)	112	66
Chaplin Lake	73	42
Buenos Aires	86	50
Bahia Salinas	123	62
Shark Bay	177	84
Tientsin	119	63
Lavalduc	122	60
Margherita di Savoia	121	62

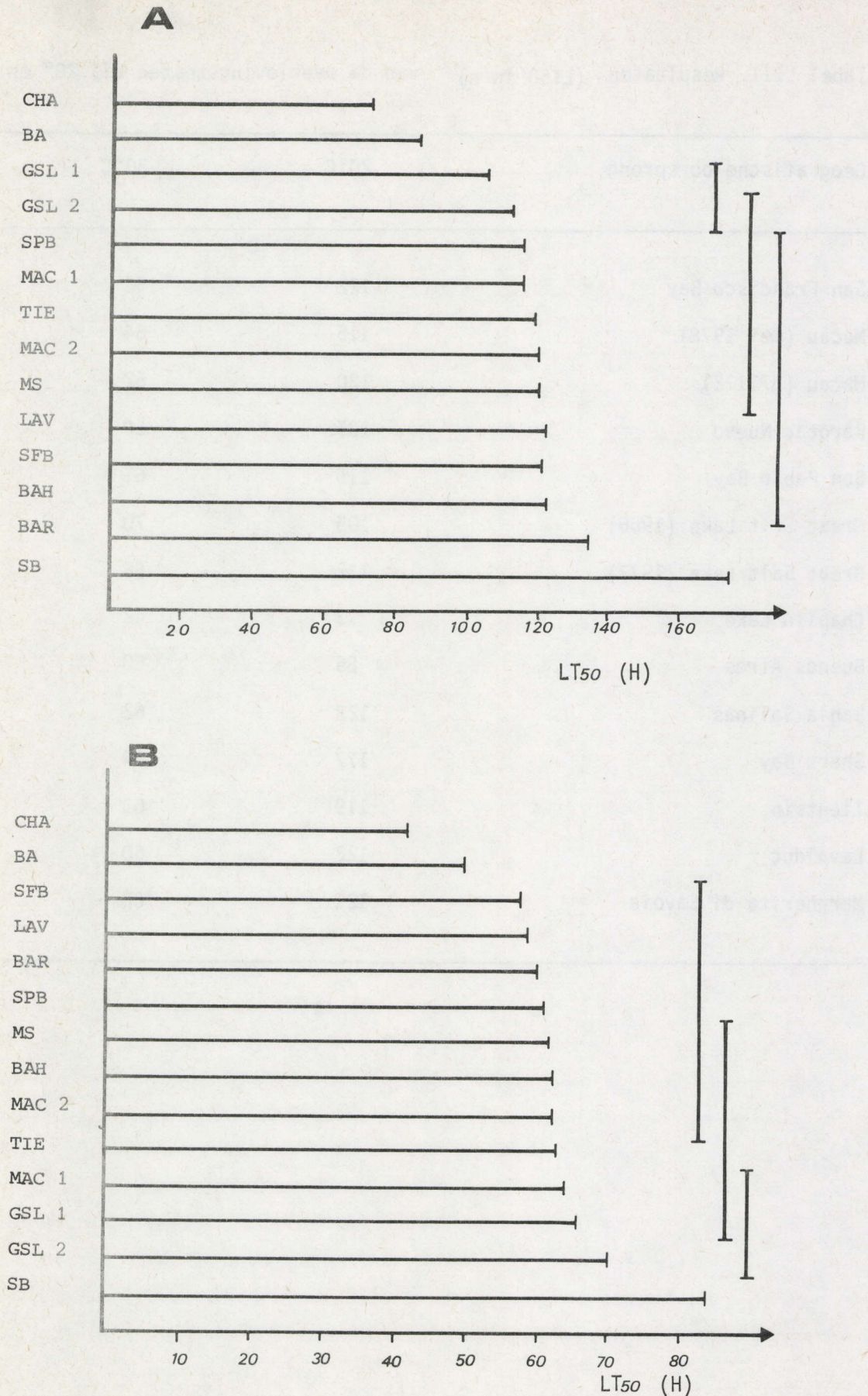


Fig.47. Grafische uitzetting van de LT₅₀-waarden bij 20°C (A) en 30°C (B) voor diverse Artemia-rassen (de waarden verbonden door een gemeenschappelijke lijn zijn niet significant verschillend op het 0,05-niveau)

Collins (1978) heeft een verband vastgesteld tussen de overleving der nauplii en hun gemiddelde grootte. Daar in hoofdstuk 7.3. reeds gebleken is dat de grootte der nauplii gekorreleerd is met diverse andere biometrische kenmerken der cysten en nauplii, werd hier een mogelijk verband gezocht tussen de overleving der nauplii en de volgende kenmerken :

- de energie-inhoud der instar I-nauplii (Joule/g)
- de energie-inhoud der instar II-III nauplii (Joule/g)
- de individuele energie-inhoud der instar I-nauplii (Joule)
- de individuele energie-inhoud der instar II-III nauplii (Joule)
- de procentuele energieafname bij overgang van het instar I naar de instar II-III stadia
- de procentuele afname in individuele energie bij overgang van het instar I naar de instar II-III stadia
- het procentueel energieverbruik gedurende de ontluiking en vroege ontwikkeling

In de meeste gevallen waren de korrelatiecoëfficiënten laag (0,2-0,5) en niet significant. De overleving bij beide temperaturen bleek echter wel significant gekorreleerd te zijn met de energie-inhoud (Joule/g) van instar I ($r = 0,55 - 0,72$) en instar II-III ($r = 0,61 - 0,64$) nauplii. Bovendien was er een significante korrelatie tussen de overleving der nauplii en de globale energiekonsumptie van embryo tot instar II-III nauplius ($r = 0,82$ bij 20°C ; $r = 0,62$ bij 30°C). Hoewel er hier een duidelijke relatie kan genoteerd worden, duiden de relatief lage waarden van de korrelatiecoëfficiënt erop dat andere parameters interfereren. Volgens Czczuga (1980) is de vitaliteit der nauplii gekorreleerd met hun gehalte aan karotenoïden. Hoewel Soejima et al. (1980) een hoge karotenoïdenconcentratie noteerden in Shark Bay-cysten, lieten hun gegevens voor de overige bestudeerde rassen niet toe een mogelijke korrelatie te bevestigen. Een andere mogelijke oorzaak van variatie tussen de rassen is wellicht het zwemgedrag der nauplii dat blijkbaar verschilt van ras tot ras (Miller et al., 1979). Ook hier kon echter geen eenduidig verband genoteerd worden.

Algemeen kan opgemerkt worden dat de verschillen in overleving tussen de Artemia-rassen, op een paar uitzonderingen na, vrij beperkt zijn.

De ionensamenstelling van het sulfaatrijke Chaplin Lake is de meest plausibele verklaring voor de geringe levensduur van Chaplin Lake-nauplii, die evenals voor de Buenos Aires-nauplii gepaard gaat met een hoog energieverbruik.

9.2. De overleving der nauplii in zoetwater

Het experimenteel opzet was identisch aan dit der overlevingstesten in zeewater. De testtemperatuur bedroeg 22°C en de mortaliteitskontroles werden om de 4 h uitgevoerd. Tergelijkertijd werd de mobiliteit der nauplii nagegaan. Hierbij werden de nauplii beschouwd immobiel te zijn op het ogenblik dat zij niet meer vrij rondzwemmen in de waterkolom en volledig beweegloos waren of langzaam bewegend op de bodem. De mobiliteit werd om de 2 h gecontroleerd. Het tijdstip waarop 50 % der nauplii immobiel waren, de "median effective time" (ET50) werd op dezelfde manier bepaald als de LT50.

De resultaten die voor de diverse Artemia-rassen konden genoteerd worden zijn weergegeven in Tabel LIV. De statistische interpretatie der resultaten is voorgesteld in Fig. 48.

Het is duidelijk dat zowel de mobiliteit als de overleving in zoetwater verschilt tussen de diverse Artemia-rassen. De parthenogenetische rassen van Margherita di Savoia, Tientsin, Lavalduc en Shark Bay vertonen over het algemeen betere overlevingscijfers dan de bisexuele rassen. De resultaten bekomen voor de Shark Bay-nauplii zijn merkwaardig in die zin dat deze nauplii op één na de hoogste LT50-waarde doch een lage ET50-waarde hebben. Dit zou erop wijzen dat Shark Bay-nauplii niet goed zoetwater kunnen verdragen en aldus vlug hun beweeglijkheid verliezen doch een grote overlevingskracht bezitten.

De hier bekomen overlevingscijfers zijn duidelijk beter dan deze vermeld door Smith (1975) die een gemiddelde overleving van 8 à 10 h noteerde in zoetwater. Croghan (1958a) noteerde dat na 24 h een grote mortaliteit optrad in gedestilleerd water en Gophen (1980) rapporteerde dat Artemia-nauplii verschillende uren kunnen overleven in zoetwater. Uit onze cijfers lijkt duidelijk dat Artemia-nauplii met succes kunnen gebruikt worden als voedselbron voor zoetwaterorganismen. Enkel de Chaplin Lake-nauplii blijken reeds binnen de 24 h een aanzienlijke mortaliteit te kennen. De nauplii van dit ras zijn ook significant vlugger

Tabel LIV. ET50- en LT50- waarden van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong in zoetwater

Geografische oorsprong	ET50 (in h)	LT50 (in h)
San Francisco Bay	6,5	26
Macau	7,0	27
San Pablo Bay	5,9	28
Great Salt Lake	6,8	26
Chaplin Lake	4,2	16
Shark Bay	5,9	37
Tientsin	6,8	33
Lavalduc	8,0	38
Margherita di Savoia	7,6	36

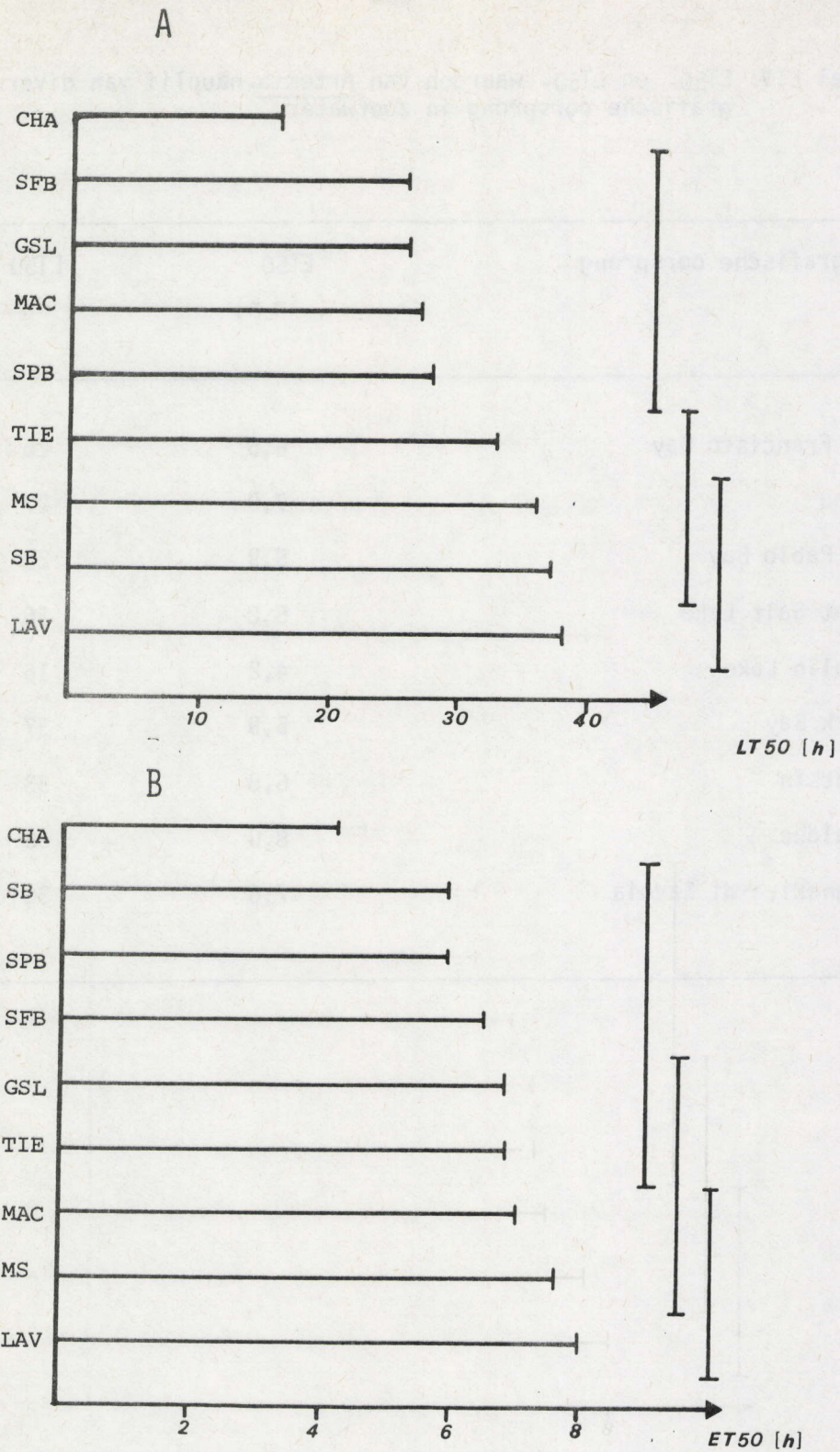


Fig.48. Grafische voorstelling van de LT_{50} (A) en de ET_{50} (B) van diverse Artemia-rassen in zoetwater (de waarden verbonden door een gemeenschappelijke lijn zijn niet significant verschillend op het 0,05 niveau)

geïmmobiliseerd dan de larven der overige bestudeerde rassen voor dewelke bij een voldoende hoge voedseldistributiefrekwentie geen problemen mogen verwacht worden. De vlugge immobilisatie en mortaliteit van de larven van dit ras kan echter de opname-efficiëntie nadelig beïnvloeden (zie verder Hoofdstuk 13.3).

9.3. De stockering der nauplii bij lage temperatuur

In hoofdstuk 7.4.3. hebben we kunnen aantonen dat de ontwikkeling van de nauplii en het ermee gepaard gaande gewichtsverlies sterk geremd wordt door stockering bij een temperatuur van $2^{\circ}\text{a}4^{\circ}\text{C}$. Opdat deze stockeringsmethode een voordelige praktijktoepassing zou vinden, is het echter noodzakelijk dat de leefbaarheid der nauplii gedurende de stockering niet aangetast wordt.

Om die reden hebben wij de overleving bestudeerd van een 7-tal Artemia-rassen die in grote densiteiten (2000 larven/ml) bewaard werden bij $2-4^{\circ}\text{C}$ in een koelkast. Daartoe werden de afge oogste instar I-nauplii met voorgekoeld zeewater overgespoeld in een cilindrokonische buis voorzien van beluchting. Het watervolume werd aangepast zodat een densiteit van 2000 nauplii per ml bekomen werd. Na 24 h en 48 h werd de overleving der nauplii bepaald aan de hand van 5 deelmonsters van ongeveer 100 nauplii. Het experiment werd 2 maal herhaald in de tijd. Voor een tweetal rassen werden de nauplii na respectievelijk 24 en 48 h stockering bij lage temperatuur getransfereerd naar een temperatuur van 25°C . Telkens 10 petriplaatjes gevuld met 10 ml zeewater en 20 nauplii werden in duisternis opgesteld. Na 24 h werd de mortaliteit gecontroleerd.

Na samenvoeging der resultaten werden de overlevingscijfers getransformeerd volgens een $\arcsin \sqrt{V\%}$ -transformatie (Snedecor en Cochran, 1967). Vervolgens werden zij onderworpen aan een variantie-analyse (Model I). Duncan-toetsen lieten toe significante afwijkingen tussen de gemiddelden te detekteren.

De overlevingscijfers zijn samengevat in Tabel LV. Hierbij werden de procentuele waarden berekend uitgaande van een theoretische startwaarde van 100 % overleving bij de aanvang van de proef.

De toegepaste bewaringstechniek laat voor de meeste bestudeerde Artemia-rassen zeer goede overlevingscijfers noteren die niet significant dalen na 48 h. De techniek is echter niet onverdeeld gunstig voor alle rassen. Zo stierven binnen 24 h reeds meer dan 80 % der Chaplin Lake-nauplii en meer dan 25 % der Buenos Aires-nauplii. Uit de resultaten blijkt verder dat de stockering bij lage temperatuur, althans voor de rassen die

er geen nadeel van ondervonden, geen negatief effect heeft op de overleving der nauplii wanneer ze terug bij een hogere temperatuur gebracht worden, zoals bij de voeding het geval is.

Tabel LV. Gemiddelde procentuele overleving der nauplii van diverse geografische oorsprong na bewaring bij 2-4°C

Geografische oorsprong	24h	48h	24h+24h25°C	48h+24h25°C
San Francisco Bay	93,0	86,7 *		
Macau	96,3	96,1		
San Pablo Bay	98,5	97,8		
Great Salt Lake	95,8	95,1	95,8	94,1
Chaplin Lake	12,4 **	7,1 **		
Buenos Aires	71,6 **	73,7 **		
Lavalduc	97,8	95,6	96,7	95,6
Margherita di Savoia	96,2	97,5		
Tientsin	97,9	96,2		

*/** significante afname op het * 0,05-, ** 0,01-niveau

Op basis van de hier bekomen gegevens en gezien het gering energieverbruik kunnen we konkluderen dat de stockering der nauplii in grote densiteit bij 2-4°C gedurende 1 à 2 dagen met sukses kan toegepast worden voor de meeste commerciële Artemia-rassen. Voor deze rassen kan die techniek leiden tot een reductie van de frekwentie waarmede de inkubatie en oogst der nauplii dient te geschieden. Zij kan ook nuttig zijn voor de bewaring van een teveel aan nauplii voor volgende voederbeurten. Voor onbekende rassen dient echter de nodige omzichtigheid aan de dag gelegd te worden vooraleer deze techniek toe te passen. Voor verdere gegevens in verband met de voedende waarde van de gestockeerde nauplii verwijzen wij naar hoofdstuk 13.3.

HOOFDSTUK 10. DE GROEI VAN ARTEMIA-LARVEN VAN DIVERSE GEOGRAFISCHE
OORSPRONG ONDER STANDAARD-PROEFOMSTANDIGHEDEN.

Het gebruik van Artemia als levende voedselbron voor vis en -crustaceëenlarven is tot op heden grotendeels beperkt gebleven tot de pas ontloken nauplii (Kinne, 1977). Hoewel deze nauplii meestal een goede voedende waarde hebben, is het reeds herhaaldelijk aangetoond dat voor de groeiende predatoren betere resultaten bekomen worden met grotere Artemia-larven die gedurende enige tijd opgekweekt werden (Walne, 1967 ; Sick en Beaty, 1974 ; Purdom en Preston, 1977 ; Sorgeloos, 1980a). Het eiwitgehalte van de Artemia-larven die gedurende enkele dagen gevoed werden, overtreft immers ruimschoots dit der pas ontloken nauplii (Dagg en Littlepage, 1972 ; Claus et al., 1979). Bovendien neemt de biomassa der gevoede larven zeer snel toe (Gilchrist, 1960 ; Mason, 1963 ; Reeve, 1963c ; Von Hentig, 1971).

In vele gevallen werden echter de nauplii verkozen omwille van de eenvoud van produktie van deze voedselbron uit inerte cysten ; dit in vergelijking tot de grote input aan tijd, arbeid, materialen en voeders voor het opkweken der Artemia-larven. De recente ontwikkelingen in verband met de Artemia-kweek op goedkope diëten (Sorgeloos et al., 1980) en de technologische verbeteringen der kweektechnologie in eenvoudige statische zogenoemde "raceway" systemen (Bossuyt en Sorgeloos, 1980) of doorvloeisystemen (Tobias et al., 1979 ; Brisset et al., 1982), heeft echter de belangstelling voor de produktie van oudere Artemia-larven en-adulten voor gebruik in de aquakultuur doen toenemen (Sorgeloos, 1980a ; 1983). Niet alleen kan een snellere groei der predatoren bekomen worden die minder energie dienen te spenderen voor het najagen van grotere prooien en een proteïnerijkere voedingsbron toegediend krijgen, doch tevens kan een aanzienlijke besparing op het cystenverbruik bewerkstelligd worden (Fujimura, 1978).

Volgens Gilchrist (1960), Sorgeloos (1975) en Tobias et al. (1980) is de groeisnelheid der nauplii niet dezelfde voor alle Artemia-rassen. In dit verband werd een standaard-kweektest uitgewerkt waarbij de groei en overleving van diverse Artemia-rassen statistisch kan vergeleken worden. De resultaten van dergelijke vergelijkende studie kunnen een leidraad vormen voor de raskeuze voor kweekdoeleinden.

10.1. De overleving en groei in een standaard-groeiproef met een levend wier als voedselbron

Deze groeiproeven werden uitgevoerd in proefbuisjes gevuld met 25 ml gefiltreerd en geëereerd artificieel zeewater (35 ‰). In elk buisje werden 10 instar I-nauplii gebracht. De buisjes werden in duisternis geplaatst in een gemodificeerde koelkast bij $25^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Als voedsel viel de keuze op het groenwier Dunaliella. Uit diverse onderzoeken is immers gebleken dat deze wiersoort een zeer geschikte voedselbron is voor Artemia (Provasoli et al., 1959 ; Mason, 1963 ; Von Hentig, 1970 ; Sorgeloos en Persoone, 1975 ; Sick, 1976). De larven werden eenmaal daags gevoed met een Dunaliella-suspensie bereid volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.4. De eerste voederbeurt greep plaats onmiddellijk nadat de nauplii in de proefbuisjes geplaatst waren. Het best geschikte voeder-schema onder de gegeven omstandigheden werd proefondervindelijk bepaald (Vanhaecke en Cooreman, 1979). De maximale groei gekoppeld aan een minimale mortaliteit kon bekomen worden door toepassing van volgend voeder-schema : dag 1, $12 \cdot 10^5$ cellen ; dagen 2,3 en 4, $24 \cdot 10^5$ cellen ; dagen 5 en 6, $36 \cdot 10^5$ cellen ; dag 7, $48 \cdot 10^5$ cellen. Op dag 8 werd het aantal overlevende nauplii geteld. De lengte der larven werd bepaald volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.6.

Gebaseerd op de residuele variantie (s^2) bekomen in de voorproeven werd het minimum aantal parallelle proefbuizen om een voldoende nauwkeurige statistische analyse toe te laten, bepaald volgens de methode beschreven in hoofdstuk 6.8. 4 parallellen bleken voldoende te zijn om met een waarschijnlijkheid $P = 0,95$ een significante uitslag te verkrijgen op het 0,05-niveau bij een verschil van 15 % tussen de gemiddelden. Om een eventuele grote mortaliteit in één der proefbuisjes te kunnen ondervangen werden 5 parallellen opgezet. Parallellen met een overlevingscijfer lager dan 70 % werden buiten beschouwing gelaten voor de lengtemetingen.

De groeitesten met telkens 4 tot 6 rassen werden zodanig ontworpen dat een statistische interpretatie door middel van een variantie-analyse (Model I) mogelijk is. De overlevingscijfers werden genormaliseerd via een arcsin $\sqrt{\%}$ -transformatie en de gemiddelden 2 aan 2 vergeleken door middel van de toets van Duncan.

Hoewel alles zoveel mogelijk gestandaardiseerd werd, kunnen tussen verschillende proeven in de tijd groeiverschillen voorkomen als gevolg van een veranderde wierkwaliteit of andere niet gecontroleerde parameters. Ten einde deze variaties te elimineren en de resultaten van de diverse experimenten onderling te kunnen vergelijken werden de nauplii van San Francisco Bay (monster nr 288-2596) in elke proef als inwendige standaard opgenomen.

Voor dit referentieras bedroeg de gemiddelde lengte na 7 dagen $3,34 \pm 0,18 \mu\text{m}$, een waarde die goed overeenstemt met de bevindingen van Sorgeloos (1975). De gemiddelde overleving gedurende alle testen bedroeg voor dit ras $94,8 \pm 2,6 \%$.

De gemiddelde overleving van de diverse geografische rassen van Artemia evenals hun gemiddelde lengtegroei, uitgedrukt in % van de groei bekomen met het referentieras, is weergegeven in Tabel LVI. De rassen van Mono Lake en Jesse Lake vertonen een zeer significant verhoogde mortaliteit ten opzichte van het referentieras. De reden hiervoor dient wellicht gezocht bij de specifieke ionensamenstelling, gekenmerkt door een hoog carbonaatgehalte, van de biotopen van deze rassen (zie Hoofdstuk 4.3.2.). Collins (1980) en Dana (1981) rapporteerden immers dat Artemia-rassen van carbonaatrijke biotopen slechts een geringe overleving kennen in chloride-wateryn. De significant lagere overlevingscijfers die voor enkele andere rassen kunnen genoteerd worden, kunnen deels aan toevallige experimentele omstandigheden te wijten zijn (zie bijvoorbeeld Lavalduc en Crimea). De toegepaste temperatuur- en saliniteitscombinatie kan hierbij ook een rol spelen, hoewel verder in hoofdstuk 11 blijkt dat een temperatuur van 25°C en een saliniteit van 35 ‰ voor praktisch alle uitgeteste rassen een optimale overleving garandeert.

Uit de gegevens van Tabel LVI blijkt dat er significante verschillen in groeisnelheid voorkomen tussen de onderzochte Artemia-rassen. In vergelijking tot het referentieras vertonen de larven van Alcochete, Tsintao, Santa Pola en Delta del Ebro een significant tragere groei. De groeisnelheid van de Artemia van Crimea, Punta Salinas, Pichelimu, Manaure, Tuticorin, Bahia Salinas, Great Salt Lake, Buenos Aires, Galera Zamba en Chaplin Lake daarentegen is significant tot zeer significant hoger. Voor 24 andere rassen kan geen significant verschil ten opzichte van het San Francisco Bay-

Tabel LVI. Groei en overleving van diverse Artemia-rassen onder standaard-kweekomstandigheden

Geografische oorsprong	Overleving (%)	Groei (% t.o.v. de referentie : SFB - 288-2596)
Jesse Lake	4**	-
Mono Lake	64**	-
Alcochete	82	86
Tsintao	94	87
Santa Pola	76*	88
Delta del Ebro	92	91
Shark Bay	90 84 ^a	95 96 ^a
Tientsin	96	98
Bhayander	94	99
Aigues Mortes	90	99
San Francisco Bay	95	100
Kutch	100	101
Izmir	96	101
Port Alma	98	102
Margherita di Savoia	96	102
San Felix	74*	102
Lake Grassmere	96	102
Macau	92	103
Long Island	94	103
Lavalduc	70* 94 ^a	109 98 ^a
Bonaire	66*	104
San Pablo Bay	90	105
Puttalam	98 96 ^a	104 105 ^a
Bahia de Ceuta	92 86 ^a	104 105 ^a
Mithapur	96	105
Great Inagua	96	107
Port Araya	90	107
Eilat	90	107
Yavaros	96	107
Chilca	82	108
Tucacas	96	109
Crimia	82 72 ^{xa}	111 116 ^a
Punta Salinas	90	113
Pichelimu	100 96 ^a	113 114 ^a
Manaure	90	115
Tuticorin	100	116
Bahia Salinas	88	122
Chaplin Lake	94	119 125 ^a
Great Salt Lake	72* 94 ^a	126
Buenos Aires	98	126
Galera Zamba	80	123

* / **

signifikant verschillend op het niveau * 0,05, ** 0,01

^a resultaat van een herhaling in de tijd

ras genoteerd worden. Uit de resultaten van de herhalingen in de tijd die voor enkele rassen uitgevoerd werden, blijkt bovendien dat de toegepaste testmethode zeer goed reproduceerbaar is.

De volgorde in groeisnelheid die voor 3 rassen (China, San Francisco Bay en Great Salt Lake) gerapporteerd werd door Sorgeloos (1975) is identisch aan de hier bekomen volgorde voor dezelfde rassen. Alle rassen die een significant snellere groei vertonen dan het referentieras zijn bisexueel. Gilchrist (1960) daarentegen melde dat een parthenogenetisch ras van La Palme een hogere groeisnelheid had dan een bisexueel Artemia-ras van de Verenigde Staten. Uit onze resultaten blijkt echter dat deze vaststelling niet kan toegeschreven worden aan een verschil in groeisnelheid die zou verband houden met de voortplantingswijze van het betrokken ras. Evenmin kon een korrelatie genoteerd worden tussen de groeisnelheid der larven en de biometrische karakteristieken der nauplii van de korresponderende rassen.

Uit de groeiresultaten van de larven afkomstig van diverse cysten-monsters van eenzelfde geografische oorsprong (Tabel LVII) blijkt verder dat de variaties gering zijn en niet significant. Bovendien zijn ook de groeiverschillen tussen de larven van het parentaal cystenmateriaal en de larven afkomstig van cysten geproduceerd in diverse biotopen na inokulaties of transplantaties of geproduceerd onder laboratoriumomstandigheden niet significant verschillend (Tabel LVIII). Zo blijven de larven van Great Salt Lake, geproduceerd in het laboratorium een snellere groei vertonen ten opzichte van San Francisco Bay-nauplii. Deze vaststellingen wijzen erop dat de groeisnelheid van Artemia-larven rasspecifiek is en onafhankelijk is van de biotische en abiotische kondities waarbij de cysten geproduceerd worden. Er is nochtans geen eenduidig verband tussen de groeisnelheid en de genetische klassifikatie van de diverse Artemia-rassen. Zo vertonen rassen waartussen de genetische afstand groot is, zoals Buenos Aires en Chaplin Lake een gelijkaardige groeisnelheid. Anderzijds kan een verschillende groeisnelheid genoteerd worden tussen rassen van eenzelfde "sibling species", zoals San Francisco Bay en Great Salt Lake die beide tot het Artemia franciscana "sibling species" behoren.

Met betrekking tot het praktisch gebruik van Artemia in de aquakultuur, verstrekken de bekomen gegevens een leidraad voor de selectie van specifieke geografische rassen voor kweekdoeleinden. Zo werd op basis van onze

Tabel LVII. Groei en overleving van Artemia-larven afkomstig van verschillende cystenmonsters van enkele Artemia-rassen

Geografische oorsprong (monster)	Overleving (%)	Groei (% t.o.v. de referentie : SFB 288-2596)	
San Francisco Bay (288-2596)	95	100	
(236-2016)	98	96	
(933-235)	94	99	
Macau (maart 1978)	84 96 ^a	96	98 ^a
(mei 1978)	94	103	
871172	92	103	
Shark Bay (114)	90 84 ^a	95	96 ^a
(1979)	98	94	
Great Salt Lake (1966)	66	127	
(1977)	94 94 ^a	119	125 ^a
(1979-185)	84	124	
(1980-285)	92	117	
Chaplin Lake (1978)	88	130	
(1979)	80	123	

^a resultaat van een herhaling in de tijd

Tabel LVIII. Groei en overleving van Artemia-larven afkomstig van cysten geproduceerd na transplantaties en inokulaties en onder laboratoriumomstandigheden

Productieplaats	Oorsprong	Overleving (%)	Groei (% t.o.v. referentie : SFB 288-2596)
Macau	SFB	92	100
Barotac Nuevo	SFB	86	97
Mundra	SFB	88	105
Thailand (13/02/1979)	SFB	94	105
Thailand (26/03/1979)	SFB	96	106
Thailand	SFB	88	102
Laboratorium ²	SFB	92	96
Laboratorium ³	GSL	86	117

¹ voor de groei en overleving van de Macau-nauplii werd het gemiddelde genomen van de diverse uitgeteste Macau-monsters

² geproduceerd met rijstvoerschroot als voedsel (Versichele en Sorgeloos, 1980)

³ geproduceerd in een "raceway" systeem (Bossuyt en Sorgeloos, 1980) met rijstvoerschroot als voedsel

bevindingen voor de biomassaproductie in "raceway" systemen overgeschakeld op het Artemia-ras van Great Salt Lake wat een aanzienlijke productieverhoging tot gevolg had (Bossuyt en Sorgeloos, 1980).

10.2. De overleving en groei in een standaard-groeiproef met een inerte voedselbron

Omwille van de hoge kostprijs van het voedsel werd de laatste jaren het gebruik overwogen van goedkope afvalprodukten uit de landbouw voor de massakweek van Artemia. Om die reden hebben wij het opportuun geacht de groeiselheid van diverse Artemia-rassen te evalueren op dergelijke inerte voedselbron. Daartoe werd gebruik gemaakt van ontvet rijstvoerschroot, een afvalprodukt van de rijstverwerking dat een geschikt Artemia-voedsel is (Dobbeleir et al., 1980) en thans aangewend wordt voor massakweekdoeleinden (Bossuyt en Sorgeloos, 1980 ; Sorgeloos, 1980a).

De groeiproeven werden uitgevoerd in donkere glazen flessen, gevuld met 60 ml geëereerd, gefiltreerd artificieel zeewater (35 ‰). De kweekrecipiënten werden horizontaal op een rolsysteem geplaatst waar ze voortdurend geroteerd werden zodat de bezinking van het inert voedsel minimaal was en het zuurstofgehalte van het kweekmedium op peil gehouden werd (minstens 4 mg O₂/l). Details over de konstruktie en de werking van dit rolsysteem zijn beschreven in Van Stappen (1981). Voor elk ras werden 8 parallel-**len** opgesteld die elk 60 nauplii bevatten. De larven werden dagelijks gevoed met een suspensie van 2 g"rice bran"/100 ml zeewater. Deze suspensie werd in een koelkast (4°C) bewaard en om de 4 dagen vervangen door een nieuwe voedseloplossing. Het toegepaste voedingsschema geselecteerd op basis van de gegevens van Van Stappen (1981) ziet eruit als volgt :

dag 1	: 300 µl/fles
dagen 2,3 en 4	: 600 µl/fles
dagen 5 en 6	: 900 µl/fles
dag 7	: 1200 µl/fles

Na een kweekperiode van 7 dagen werd de groeiproef beëindigd. De overleving, de lengte en het drooggewicht der nauplii werden bepaald volgens de methoden vermeld in hoofdstuk 6.6.7 . Per flesje werden "at random" 10 nauplii genomen voor lengtemeting. Na de meting werden deze terug bij de overblijvende nauplii gebracht.

De voederproeven werden zo opgesteld dat de resultaten statistisch kunnen geanalyseerd worden volgens een variantie-analyse (Model I). De overlevingscijfers werden daartoe echter getransformeerd door middel van een $\arcsin \sqrt{V\%}$ - transformatie. De gemiddelden werden twee aan twee vergeleken door de toepassing van de toets van Duncan. Ten einde de resultaten van de diverse proeven onderling te kunnen vergelijken werd bij elke proef het ras van San Francisco Bay monster nr. 288-2596 als inwendige standaard gebruikt.

In Tabel LIX is de overleving en de groei (lengte en drooggewicht) van alle onderzochte rassen samengevat. Zowel de lengte als het drooggewicht werden uitgedrukt in % van de waarde bekomen voor het standaard-ras San Francisco Bay, monster nr. 288-2596.

Uit de Tabel blijkt dat voor de meeste rassen een goede overleving bekomen werd. In vergelijking tot de groeiproef met levend voedsel was de mortaliteit hier echter gemiddeld iets hoger. Dit is wellicht gedeeltelijk te wijten aan het voedsel zelf. Dunaliella-cellen zijn chemisch gezien een hoogwaardiger voedsel dan rijstvoerschroot dat slechts 13 % proteïnen bevat (Sorgeloos et al., 1980). Bovendien is het niet mogelijk om bij gebruik van rijstvoerschroot, zonder zuivering of verversing van het water, de kwaliteit optimaal te houden.

De gemiddelde lengte van het referentieras bedroeg na 7 dagen 3,79 mm ($s = 0,22$ mm). Deze waarde ligt beduidend hoger dan de gemiddelde lengte (3,34 mm) van dit ras bekomen na 7 dagen voeding met Dunaliella. Er dient hier wel opgemerkt te worden dat in totaal 1,7 mg "rice bran" toegediend werd per larve, terwijl met Dunaliella slechts 0,176 mg drooggewicht beschikbaar gesteld werd.

Uit Tabel LIX kan duidelijk afgeleid worden dat ook bij gebruik van rijstekaf significante verschillen in groei optreden tussen de diverse bestudeerde rassen. Terwijl het Shark Bay-ras significant kleiner is, blijken een 7-tal rassen significant groter te zijn dan het referentieras. Belangrijk hierbij is de vaststelling dat alle rassen die een significant betere groei opleverden bij gebruik van Dunaliella als voedselbron, ook hier duidelijk de beste groeieresultaten laten noteren (Great Salt Lake, Bahia Salina, Buenos Aires, Chaplin Lake, Manaure, Galera Zamba). Bovendien kan een significant-positieve korrelatie ($r = 0.87$) vastgesteld worden tussen de lengte-groei der diverse rassen op Dunaliella en de lengte-groei op rijstvoerschroot. Dit laat ons toe te besluiten dat :

Tabel LIX. Overleving (in %), lengtegroei en gewichtstoename (in % van het standaardras) der diverse Artemia-rassen

Geografische oorsprong	Overleving	Lengte	Drooggewicht
Shark Bay	51 *	89 *	-
Tsintao	83	93	75 *
Tientsin	86	96	86
Lavalduc	93	96	110
Margeherita di Savoia	88	99	97
San Francisco Bay	86	100	100
Port Alma	87	102	114
Macau	90	102	114
Barotac Nuevo	86	103	114
Bonaire	90	104	107
Tuticorin	76 *	106	93
San Pablo Bay	92	106	114
Reference Artemia cysts ¹	90	107	105
Izmir	88	108	95
Port Araya	81	112 **	132 *
Great Salt Lake (1977)	86	115 **	128 *
Great Salt Lake (1979)	93	120 **	144 *
Bahia Salina	74 *	122 **	147 **
Buenos Aires	80	124 **	130 **
Manaure	85	129 **	146 **
Chaplin Lake	77	130 **	165 **
Galera Zamba	87	133 **	164 **

* significant verschillend op het 0,05 niveau t.o.v. het referentieras

** significant verschillend op het 0,01 niveau t.o.v. het referentieras

¹ zie hoofdstuk 13

- de verschillen in groeisnelheid der diverse rassen van Artemia onafhankelijk zijn van het gebruikte voedsel;
- de resultaten van de eenvoudige gestandaardiseerde groeiproef met Dunaliella kunnen gebruikt worden bij de raskeuze voor massakweek en produktie van Artemia-biomassa en dit onafhankelijk van het voedsel dat bij de massakweek aangewend wordt.

Het belang van de selektie van geschikte Artemia-rassen voor de biomassaproduktie wordt nog beklemtoond wanneer het bekomen drooggewicht in beschouwing genomen wordt. Het drooggewicht gaat inderdaad exponentieel toenemen naarmate de lengte van het organisme groter wordt. Uit de cijfers van Tabel LIX blijkt dan ook duidelijk dat de relatieve verschillen in groei, op basis van het drooggewicht, in ruime mate uitstijgen boven de relatieve lengteverschillen. Voor de praktijk betekent dit, dat bij gebruik van nauplii afkomstig van Great Salt Lake, Chaplin Lake, Manaure, Bahia Salinas en Galera Zamba binnen eenzelfde tijdspanne ongeveer 50 % meer biomassa kan geproduceerd worden dan bij de kweek van San Francisco Bay-Artemia.

HOOFDSTUK 11. DE INVLOED VAN TEMPERATUUR EN SALINITEIT OP DE OVERLEVING VAN ARTEMIA-RASSEN

11.1. De preferentie en tolerantie van diverse Artemia-rassen t.o.v. temperatuur en saliniteit

De Artemia-biotopen komen voor in verschillende klimaatsgebieden verspreid over de 5 continenten. Het pekelkreeftje wordt zowel aange troffen in tropische streken met een minimaal maandelijks gemiddelde van 18°C als in boreale gebieden waar gedurende de koudste maand de gemiddelde temperatuur lager is dan -3°C (zie Hoofdstuk 2.3). Daarnaast kunnen tevens ruime verschillen in saliniteit genoteerd worden tussen de diverse Artemia-biotopen en dit zowel voor wat betreft het gemid- delde zoutgehalte als de seizoenale saliniteitsfluctuaties. (zie Hoofd- stuk 4.3.2.1.). Het is dan ook niet onwaarschijnlijk dat het voorkomen van Artemia in geïsoleerde biotopen, elk met hun specifiek temperatuur en saliniteitsregime, geleid heeft tot populaties met een verschillende tolerantie ten opzichte van deze abiotische factoren. De aanzienlijke genetische differentiatie, die genoteerd werd voor talrijke Artemia- rassen (Bowen et al., 1978 ; Abreu-Grobois en Beardmore, 1982), kan en- kel maar de waarschijnlijkheid verhogen dat ook fysiologische verschil- len voorkomen.

Alhoewel Artemia algemeen beschouwd wordt als een euryhaliene zomersoort (Carpelan, 1957 ; Ivleva, 1969 ; Bayly, 1972 ; Stephens en Gillespie, 1972), hebben preliminaire kweektesten met een 4-tal rassen bij verschil- lende temperaturen en saliniteiten belangrijke tolerantieverschillen voor deze abiotische factoren aan het licht gebracht (Sorgeloos et al., 1976 ; Claus et al., 1977).

Enkele schaarse ekologische waarnemingen in dit verband duiden eveneens op verschillen in temperatuur- en saliniteitstoleranties bij Artemia-rassen (Anderson, 1958a; Al-Uthman, 1971 ; Kristensen en Hulscher-Emeis, 1972). Het is echter niet mogelijk om uitgaande van deze ekologische waarnemingen zich een idee te vormen omtrent de pre- ferenda en tolerantie van de desbetreffende Artemia-rassen. Deze gege- vens laten immers veelal niet toe een inzicht te verwerven in de jaar- lijkse, seizoenale en diurnale schommelingen van deze abiotische para- meters. Bovendien wordt het natuurlijk voorkomen van Artemia beperkt

tot biotopen met hoge saliniteitswaarden waar predatoren door deze ekologische barrière geweerd worden (Persoone en Sorgeloos, 1980).

Dergelijke studie moet dus via labo- kweekexperimenten aangepakt worden. De bekomen gegevens in verband met temperatuur- en saliniteitstoleranties zullen niet alleen van fundamentele betekenis zijn voor de karakterisatie van Artemia-rassen, doch zullen tevens van praktische betekenis zijn ; denken we hierbij maar aan de selectie van rassen voor inokulatiedoeleinden in specifieke biotopen en aan de kweek in media met bijzondere kenmerken, zoals water van geothermale oorsprong (Brisset et al., 1982).

Voor een dergelijke studie van de temperatuur- en saliniteitstolerantie van aquatische invertebraten is het echter noodzakelijk dat beide fysiko-chemische factoren simultaan uitgetest worden. De tolerantie voor de ene faktor kan inderdaad aanzienlijk gemodificeerd worden door de andere. Kinne (1970) rapporteerde immers dat "several aquatic invertebrates which live in habitats with greatly fluctuating temperature and salinity conditions can tolerate sub-normal temperatures better at the upper end of their salinity range". Dezelfde auteur voegde er echter aan toe dat een reciproke respons, namelijk betere overleving bij een lage saliniteit gekoppeld aan een hoge temperatuur (en omgekeerd) eveneens reeds bij andere invertebraten genoteerd werd. Von Hentig (1970) kon dergelijke interrelatie tussen temperatuur en saliniteit aantonen voor het Artemia-ras van Great Salt Lake.

In dit verband werd dan ook een faktoriële standaardproef uitgewerkt bestaande uit 25 temperatuur- en saliniteitskombinaties, namelijk 18°, 22°, 26°, 30° en 34°C en 5, 15, 35, 70 en 120 ‰. Het 120 ‰ medium werd opgemaakt aan de hand van de gemodificeerde formule van Dietrich en Kalle (zie Hoofdstuk 6.2), mits vertienvoudiging van de hoeveelheid NaHCO_3 . De media met lagere saliniteit werden bekomen door verdunning met gedestilleerd water. Het aldus bereide water was voldoende gebufterd, zodanig dat zelfs bij de laagste saliniteit een pH-waarde van 7,9 tot 8 bereikt werd. Een mogelijk negatief effect op de ontwikkeling van Artemia als gevolg van een te lage pH-waarde (Provasoli en D'Agostino, 1969) is hier dus uitgesloten.

Enkele voorbereidende proeven in diverse testrecipiënten wezen uit dat in cilindrokonische buizen (grootste diameter 8 cm ; inhoud 1 l.), voorzien van een kontinu geringe aëratie vanuit de punt van de buis

de beste overlevingsresultaten bekomen werden. Elk testrecipiënt bevatte 250 ml water met 50 instar I-nauplii, geoogst op de T90 na inkubatie bij 25°C en 35 ‰. Na inbreng der nauplii werden de testrecipiënten afgesloten met een petriplaat. Op die manier werden uitdamping en bijgevolg ook saliniteitswijzigingen voorkomen. Door een centrale opening in de petriplaat stak een rubberdarm verbonden met een pasteurpipet langswaar het kweekmedium geaëreerd werd. De testrecipiënten werden in waterbaden geplaatst voorzien van een verwarmingselement gekoppeld aan een thermostaat die een konstante temperatuur garandeerde ($\pm 0,2^\circ\text{C}$). In elk thermostatisch bad werd stratifikatie van het opgewarmde water voorkomen door gebruik van een luchtwater pompsysteem (Fig. 49).

Bij de aanvang van de proef werd een akklimatisatie voorzien van 2 h waarbij geleidelijk opgewarmd of afgekoeld werd. Dit bleek voldoende om geen additionele stress-mortaliteit te veroorzaken.

Vermits pas ontloken instar I-nauplii uitstekend grote saliniteitsschommelingen kunnen weerstaan (D'Agostino en Provasoli, 1968 ; Sorgeloos, 1979 b zie ook verder in kapittel 11.3) werd geen aanpassing voorzien aan de diverse saliniteiten.

De proeven werden uitgevoerd in duisternis. Elke temperatuur- en saliniteitskombinatie werd uitgetest in 3 parallellen. Voor sommige rassen werden echter later nog 2 supplementaire herhalingen opgezet (zie verder). Gedurende de ganse testperiode (9 dagen) werden de larven dagelijks gevoed met Dunaliella-cellen. Daar de metabolische behoeften van mariene invertebraten zich kunnen wijzigen in functie van de temperatuur (Kinne, 1970), werd in een reeks preliminaire proeven een voederschema opgesteld dat een maximale overleving kon garanderen bij elke testtemperatuur. Vermits de nutritionele behoeften van Artemia ook beïnvloed worden door de saliniteit (Hernandorena, 1974, 1975) en kunnen verschillen van ras tot ras (Provasoli en D'Agostino, 1969) werden in deze preliminaire proeven 2 genetisch verschillende Artemia-rassen en 2 saliniteiten betrokken. De overlevingsresultaten van deze experimenten, uitgevoerd onder de hierboven beschreven kondities in 4 parallellen zijn samengevat in Fig. 50. Hierbij werden eenvoudigheidshalve enkel de totale voedselhoeveelheden opgegeven. De dagelijkse verdeling van het voedsel nam steeds dezelfde verhoudingen in acht (zie Tabel LX). Uit deze preliminaire proeven bleek alvast dat :

- voor elke temperatuur een brede waaier van voederniveaus een optimale overleving kon opleveren ;

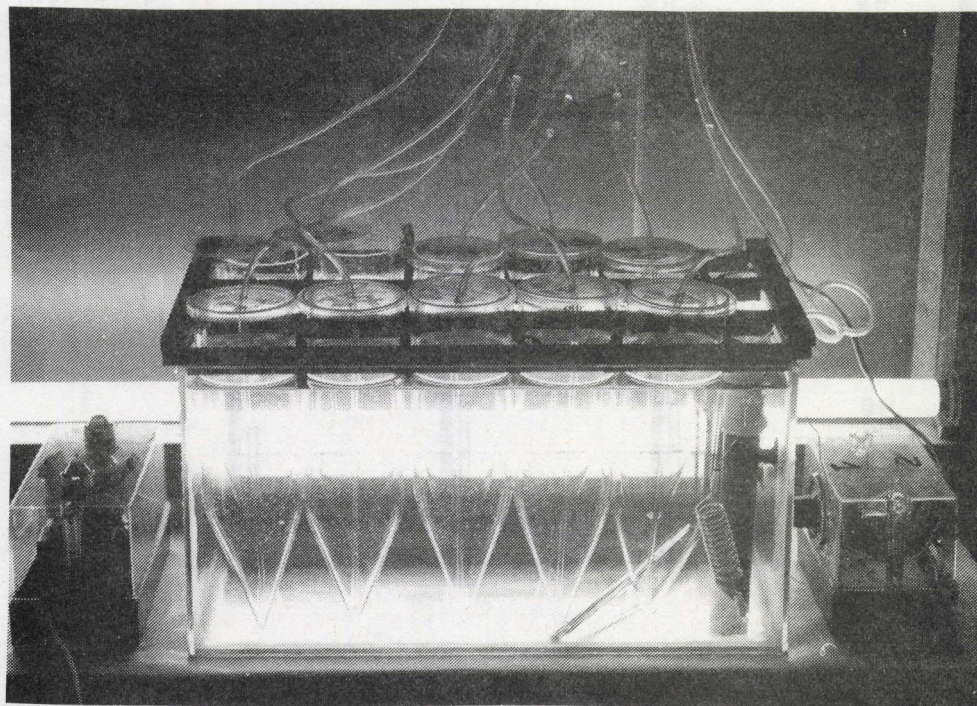


Fig.49. Voorstelling van de opstelling van de kweekproeven

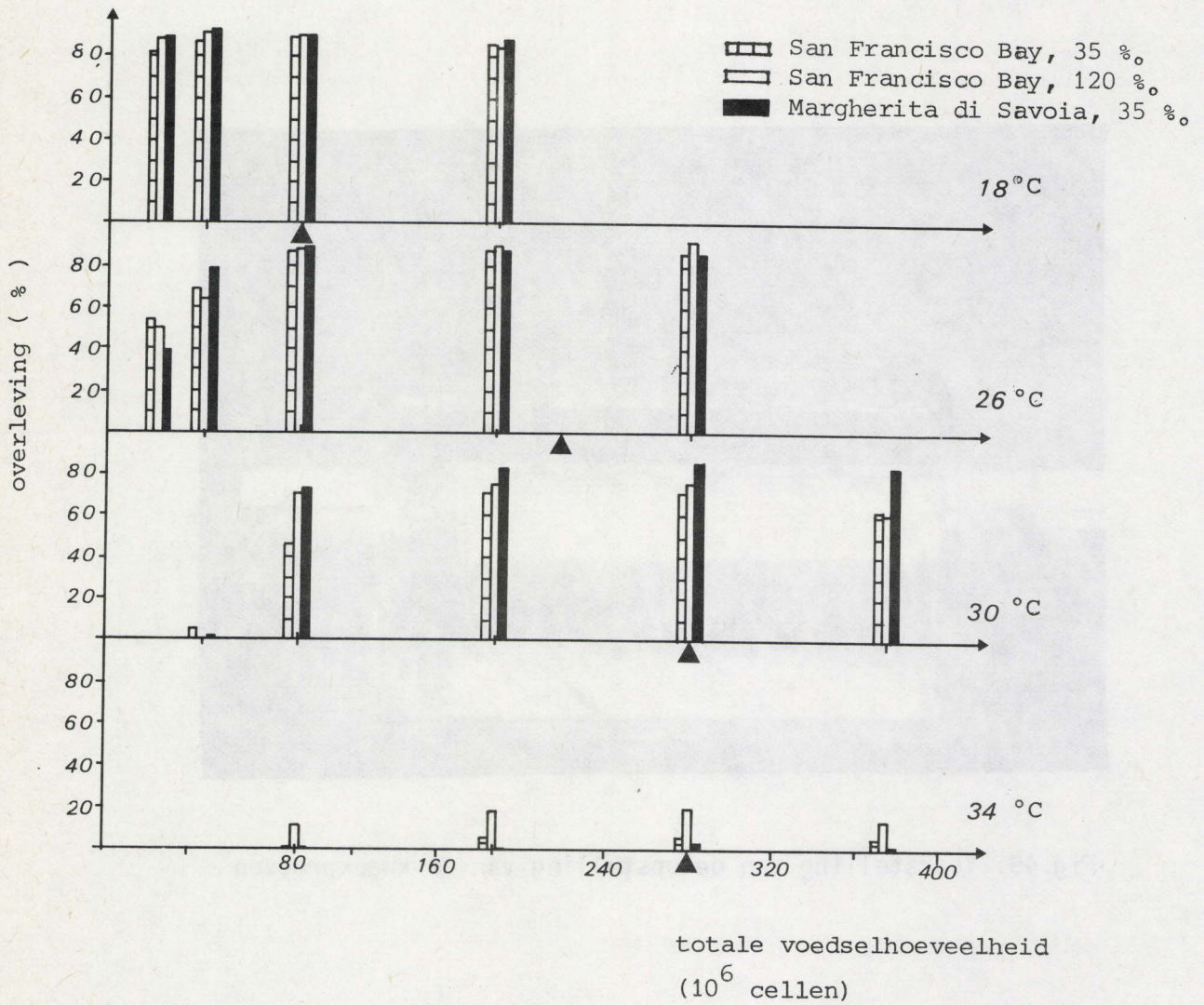


Fig.50. Invloed van de voedselhoeveelheid op de overleving van Artemia bij verschillende temperaturen

- binnen het uitgetest saliniteitsinterval zich geen noemenswaardige verschillen voordeden;
- er geen verschil in voederbehoeften optrad tussen de 2 uitgeteste rassen, althans voor wat het overlevingskriterium betreft.

De bekomen gegevens lieten dan ook toe om voor elke temperatuur een voeder-schema op te stellen dat geschikt is voor de diverse saliniteiten en Artemia-rassen (Tabel LX).

Tabel LX. Voedselkwantiteiten verstrekt bij de diverse testtemperaturen (aantal Dunaliella-cellen $\times 10^6$)

Temperatuur	18°C	22°C	26°C	30°C	34°C
dag 1	3,6	6,0	8,4	10,8	10,8
dag 2,3,4	7,2	12,0	16,8	21,6	21,6
dagen 5,6	10,8	18,0	25,2	32,4	32,4
dagen 7,8	14,4	24,0	33,6	43,2	43,2
dag 9	18,0	30,0	42,0	54,0	54,0

Na 9 dagen werd in elk recipiënt de overleving gecontroleerd. Aanvankelijk werd ook na 5 dagen de overleving bepaald, doch dit werd niet verder doorgevoerd. De nauplii van Artemia kunnen immers bij de laagste testtemperaturen gedurende 4 à 5 dagen overleven zonder voedseltoediening (zie Hoofdstuk 9.1), waardoor de overlevingsresultaten bij deze temperatuur bevoordeeld worden. De testduur werd verder beperkt tot 9 dagen, daar de larven na deze periode onder gunstige kondities het pre-adulte stadium bereikt hebben, zodat reeds een belangrijk deel van de levenscyclus omvat is. Bovendien hebben we kunnen vaststellen dat na deze periode slechts in geringe mate verdere mortaliteit optrad.

Na een $\sqrt{\%}$ -transformatie, ter verbetering van de normaliteit der overlevingscijfers (Snedecor en Cochran, 1967), werden de resultaten onderworpen aan een statistische analyse. De meest geschikte mathematische analyse-methode van dergelijke faktoriële experimenten, waarbij de invloed van 2 abiotische factoren simultaan uitgetest wordt, is de zogenaamde

" response surface" analyse (Alderdice, 1972). Deze techniek biedt de mogelijkheid het effect van iedere faktor afzonderlijk en de interacties tussen de factoren statistisch te determineren. Dank zij de bereidwillige medewerking van Dr. S. Siddall (University of Miami), werden onze resultaten volgens deze methode geanalyseerd op een UNIVAC 1100/20 computer. Het toegepaste programma "BOX 2" is oorspronkelijk opgesteld door Lindsey en Sandness (1972) en door Dr. Sidall getransformeerd voor toepassing op de vermelde computer. Een gedetailleerde beschrijving van de mathematische achtergrond en de methodiek van de "response surface" analyse is gegeven in Lindsey en Sandness (1972) en in het addendum tot de doktoraatsverhandeling van Sorgeloos (1975).

In een eerste fase worden de resultaten onderworpen aan een variantie-analyse voor proeven met twee factoren en herhalingen binnen de subklassen (Sokal en Rohlf, 1969). Uitgaande van de berekende gemiddelde kwadratensommen kan de significantie van het effect van de temperatuur en de saliniteit afzonderlijk evenals het effect van de interacties nagegaan worden. Hierbij worden de kwadratensommen van het effect verder opgesplitst in een lineaire en kwadratische komponent door gebruik van polynomiale vermenigvuldigers (Snedecor en Cochran, 1967). De kubische komponent die over het algemeen onbelangrijk is voor de interpretatie van biologische gegevens (Steel en Torrie, 1960) werd buiten beschouwing gelaten.

De variantie-analyse vormt de basis voor een vergelijking die de effecten beschrijft. De regressievergelijking ziet eruit als volgt :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_1^2 + b_4X_2^2 + b_5X_1X_2 + b_6X_1^2X_2 + b_7X_1X_2^2 + b_8X_1^2X_2^2$$

waarbij Y = de respons (overleving)

X_1 = faktor 1 (saliniteit)

X_2 = faktor 2 (temperatuur)

De laatste 3 termen van deze vergelijking werden echter buiten beschouwing gelaten daar zij geen praktisch belang hebben bij de interpretatie der resultaten (Lindsey en Sandness, 1972). Naast deze lineaire vergelijking kan echter ook een niet-lineaire vergelijking aangepast worden aan de resultaten :

$$Y^C = b_0 + b_1 X_1^{a1} + b_2 X_2^{a2} + b_3 X_1^{2a1} + b_4 X_2^{2a2} + b_5 X_1^{a1} X_2^{a2}$$

waarbij c , a_1 en a_2 exponenten zijn berekend volgens de methode van de kleinste kwadraten (Lindsey en Sandness, 1972). Vermits deze laatste regressievergelijking nauwkeuriger de effecten omschrijft, werden de hier bekomen resultaten steeds aan dit niet-lineaire model aangepast. De toepassing van deze niet-lineaire vergelijking vereist echter een grotere nauwkeurigheid der resultaten (een kleinere residuele variantie). Om die reden werden voor sommige rassen 2 supplementaire parallellen uitgevoerd.

Wanneer alle mogelijke waarden van de onafhankelijk veranderlijken in de vergelijking gebracht worden en de resulterende respons-waarden driedimensionaal voorgesteld worden, bekomt men een respons-oppervlak (Alderdice, 1972). Door bij een gegeven waarde van Y de korresponderende waarden van X_1 en X_2 uit te zetten in een X_1, X_2 -vlak bekomt men een kromme. De omtrekdiagramma's die in feite doorsneden zijn van het respons-oppervlak worden isoplethen genoemd. Tenslotte kan gebruik gemaakt worden van de methode der kleinste kwadraten om de optimum-kombinatie van X_1 en X_2 te bepalen waarbij de respons Y maximaal is (Lindsey en Sandness, 1972 ; Sorgeloos, 1975).

Voor elk onderzocht ras zijn de overlevingsresultaten, evenals de F -waarden van de variantie-analyse en de regressievergelijking in tabelvorm samengevat. Ter illustratie werd voor het ras van de San Francisco Bay de volledige tabel van variantieanalyse opgegeven. Tevens is voor elk ras de overleving in funktie van de saliniteit (X_1) en de temperatuur (X_2) driedimensionaal en tweedimensionaal voorgesteld. De omtrekdiagramma's of isoplethen van de tweedimensionale weergave korresponderen met een respektievelijke overleving van 1, 10, 50, 70 en 90 %. Bij de bespreking der resultaten worden de rassen gegroepeerd op basis van hun genetische karakteristieken.

San Francisco Bay (Tabellen LXI en LXII ; Fig. 51), Macau (Tabel LXIII ; Fig. 52) en Barotac Nuevo (Tabel LXIV ; Fig. 53).

De twee laatstgenoemde bisexuele rassen zijn ontstaan uit hetzelfde parentaal cystenmateriaal afkomstig van San Francisco Bay. Uit de variantie-analyse blijkt dat steeds de saliniteit en de temperatuur van het medium beide een signifikante invloed uitoefenen op de overleving. Het effect van de saliniteit treedt echter slechts duidelijk op bij waarden

TABEL LXII. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van San Francisco Bay

$\frac{S}{T}$ (%) (°C)	5	15	35	70	120
18	0 10 3	43 47 50	44 42 43	50 46 42	46 50 42
22	0 6 1	40 39 48	46 48 47	48 44 46	44 44 42
26	4 1 0	41 41 45	42 47 49	47 34 47	38 29 35
30	1 0 0	32 25 31	39 39 36	35 31 38	30 31 37
34	0 0 0	0 0 0	0 3 4	7 11 5	8 11 17

F-waarden

X_1 lineair : 137,5**
 X_2 lineair : 57,3**
 X_1 kwadratisch : 17,2**
 X_2 kwadratisch : 32,1**
 $X_1 \times X_2$: 0,0

Regressievergelijking $y^{0,53} = -9,07 + 22,17 x_1^{-0,4} + 4506,2 x_2^{-1,6} - 58,73 x_1^2 (-0,4) - 0,29 \cdot 10^6 x_2^2 (-1,6) + 43,26 x_1 (-0,4) x_2 (-1,6)$

TABEL LXI. Tabel van variantieanalyse voor de resultaten van het ras van San Francisco Bay

	Vrijheidsgraden	Som van de kwadraten	Gemiddelde kwadraten	F-waarde
Regressie	5	20205,6	4041,1	48,8
X_1 lineair	1	11380,4	11380,4	137,5
X_2 lineair	1	4743,4	4743,4	57,3
X_1 kwadratisch	1	1421,9	1421,9	17,2
X_2 kwadratisch	1	2659,6	2659,6	32,1
$X_1 \times X_2$	1	0,3	0,3	0,0
Transformatie	3	13235,1	4411,7	53,3
Residuele fout	66	5463,0	82,8	
Totaal	74	25668,6		

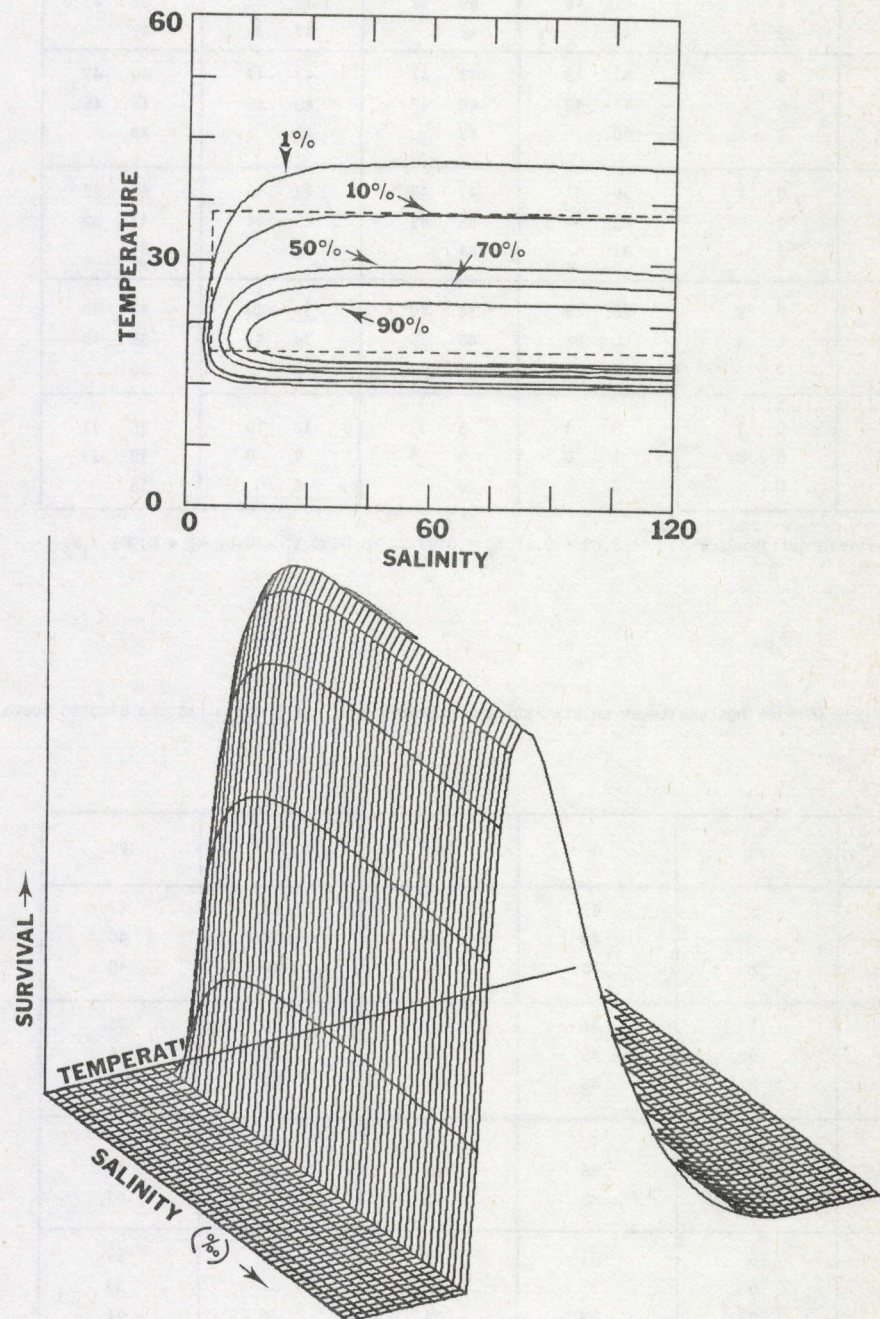


Fig.51. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van San Francisco Bay

TABEL LXIII. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Macau

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	4 3 5 6 9	46 47 47 48 49	50 46 49 47 49	50 45 49 44 47	45 48 48 43 42
22	2 2 6 4 1	47 43 44 42 40	49 47 48 47 47	43 47 40 45 46	40 47 45 45 39
26	0 1 4 0 1	39 42 42 44 41	47 48 48 49 44	42 46 43 44 44	41 45 41 39 37
30	0 1 1 0 0	26 29 30 28 34	34 40 40 35 35	33 40 39 41 32	32 37 35 40 30
34	0 0 0 0 0	0 1 1 0 0	3 11 9 5 10	12 10 9 8 8	15 11 12 13 18

F-waarden

X_1 lineair : 85,8**
 X_2 lineair : 114,9**
 X_1 kwadratisch : 51,0**
 X_2 kwadratisch : 79,5**
 $X_1 \times X_2$: 7,2**

Regressievergelijking $Y^{0.499} = 3,83 + 0.11 X_1 + 0.93 X_2 - 0.0009 X_1^2 - 0.02 X_2^2 + 0.002 X_1 X_2$

TABEL LXIV. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Barotac Nuevo

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	3 1 2	45 49 40	46 44 46	49 48 47	47 46 48
22	1 5 2	46 45 45	48 44 46	46 49 49	46 46 46
26	2 1 3	42 46 42	49 49 47	49 49 47	44 44 43
30	0 0 0	31 35 39	36 35 39	36 37 34	39 34 41
34	0 0 0	6 8 13	15 16 16	12 18 19	18 16 16

F-waarden

X_1 lineair : 1615,0**
 X_2 lineair : 409,0**
 X_1 kwadratisch : 135,0**
 X_2 kwadratisch : 100,1**
 $X_1 \times X_2$: 0,7

Regressievergelijking $Y^{0.59} = 5,31 + 20,101 X_1^{-0,82} + 0,2588 X_2^{1,33} - 188,20 X_1^2 (-0,82) - 0,00216 X_2^2 (1,33) - 0,0366 X_1^{-0,82} X_2^{1,33}$

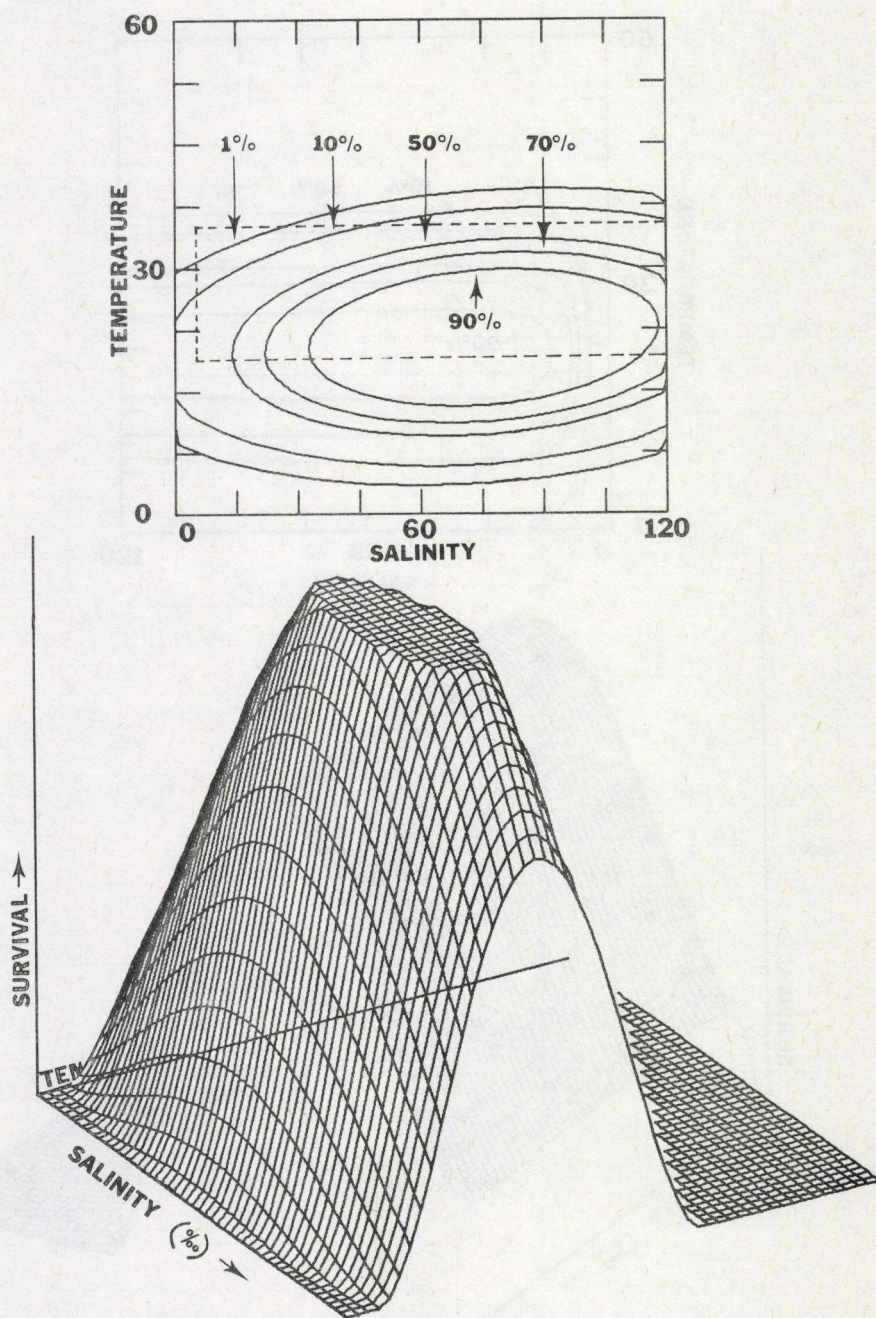


Fig.52. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Macau

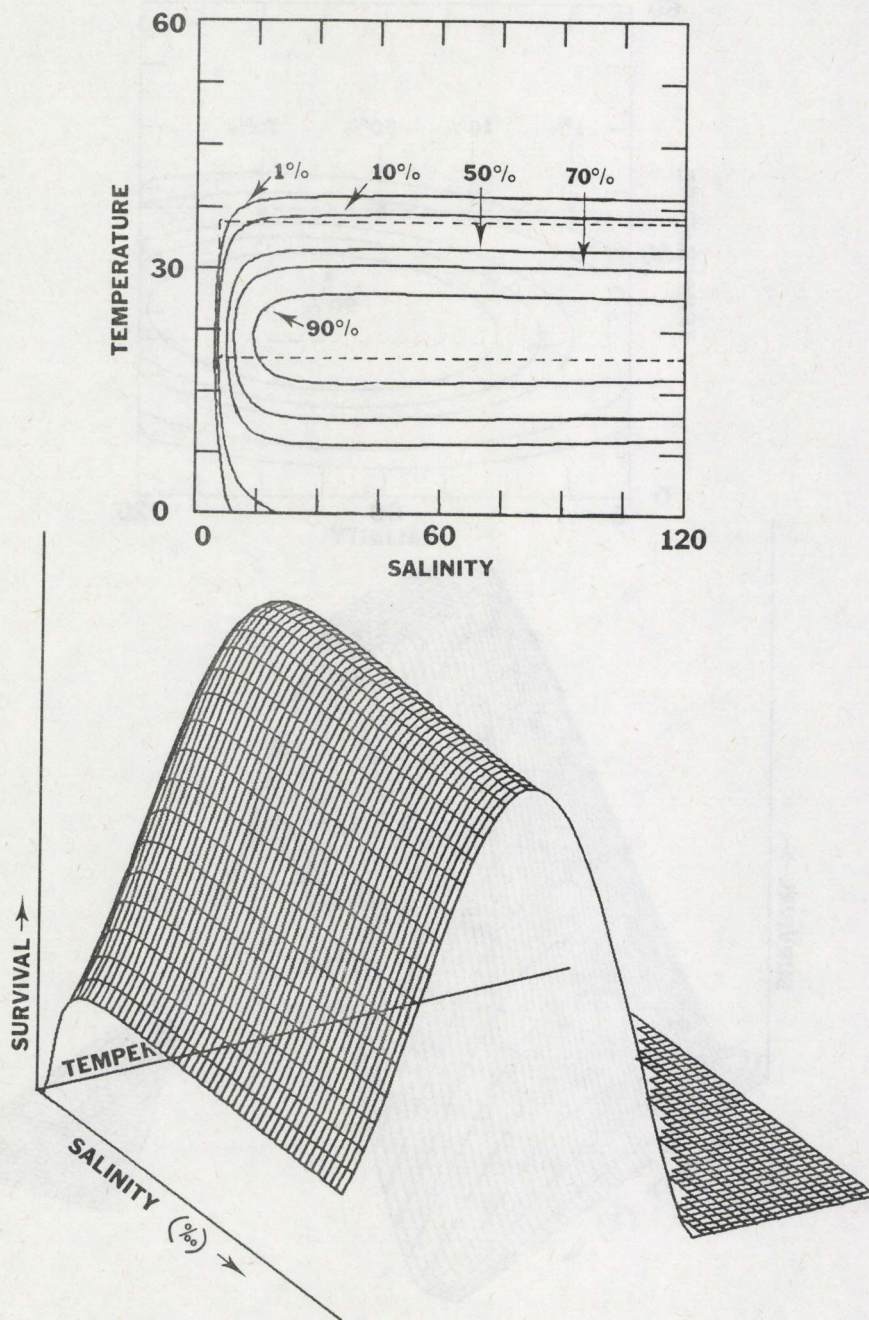


Fig.53. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Barotac Nuevo

kleiner dan 15 ‰. Bij hogere saliniteiten wordt de overleving onafhankelijk van het zoutgehalte, praktisch uitsluitend bepaald door de temperatuur. Dit komt duidelijk tot uiting door de overwegend horizontale (evenwijdig met de saliniteitsas) configuratie van de overlevingsisoplethen.

De berekende optimale temperatuur-saliniteitskombinaties waren respectievelijk 20,6°C - 62 ‰, 21,5°C - 75 ‰ en 21,6°C - 41 ‰ voor de rassen van San Francisco Bay, Macau en Barotac Nuevo. Het dient echter opgemerkt dat die optima slechts een relatief gering belang hebben gezien de brede tolerantie-intervallen van de organismen, hetgeen blijkt uit de driedimensionale diagrammen : een praktisch maximale overleving wordt bereikt over een breed gebied.

De verschillen in saliniteitstolerantie tussen de drie rassen zijn vrij gering. De rassen van San Francisco Bay en Barotac Nuevo vertonen een praktisch identieke configuratie met een overleving van minstens 90 % vanaf 15 tot 120 ‰. De invloed van de saliniteit is iets meer uitgesproken voor het ras van Macau, waarbij vanaf 25 tot ongeveer 115 ‰ een goede overleving (90 %) kan genoteerd worden. Bovendien kan enkel bij dit laatste ras een, zij het geringe, significante interactie tussen de temperatuur en de saliniteit onderkend worden. De hogere temperaturen worden blijkbaar iets beter verdragen bij een hoge saliniteit.

Ofschoon het algemeen effect van de temperatuur voor deze 3 rassen vrij analoog is, kunnen toch subtiele verschillen vastgesteld worden, vooral met betrekking tot hun tolerantie voor hoge temperaturen. Het omtrekdiagramma representatief voor 50 % overleving, is voor het San Francisco Bay-ras gesitueerd bij een temperatuur van 29 à 30°C ; voor de Macau-Artemia bij 30 à 31°C. Voor het ras van Barotac Nuevo reikt de 50 % isopleeth in het optimale saliniteitsinterval tot 32°C. Dit wijst reeds op een vorm van adaptatie die de pekelkreeftjes van Barotac Nuevo en Macau ondergaan hebben ten gevolge van de hoge watertemperaturen in de biotopen waarin ze geïnokuleerd werden. De 3 rassen laten echter een goede overleving (90 %) noteren in een breed temperatuurgebied dat echter opnieuw iets naar boven toe uitgebreid is voor de rassen van Macau en Barotac Nuevo, namelijk 18 à 26-28°C ten opzichte van het San Francisco Bay-ras (18 à 25°C). Voor wat dit laatste ras betreft stemmen onze resultaten goed overeen met de resultaten van Dobbeleir (1977). Sorgeloos et al. (1976) en Claus et al. (1977) daarentegen stelden slechts een verhoogde mortaliteit vast bij temperaturen begrepen tussen 30°C en 34°C.

Deze diskordantie heeft evenwel wellicht te maken met de proefduur die bij laatstgenoemde auteurs slechts 4 dagen bedroeg.

Great Salt Lake (Tabel LXV ; Fig. 54) en Chaplin Lake (Tabel LXVI ; Fig. 55).

Deze bisexuele rassen behoren evenals de hiervoor besproken rassen tot het Artemia franciscana "sibling species" (Bowen et al., 1978). Het driedimensionaal respons-oppervlak wijst echter op duidelijke tolerantieverschillen tussen Great Salt Lake-en Chaplin Lake-Artemia onderling en tussen deze rassen en de rassen afkomstig van San Francisco Bay.

De F-waarden van de variantieanalyse wijzen voor de Great Salt Lake-Artemia op een zeer significant effect van de temperatuur en de saliniteit op de overleving. Opvallend hierbij is dat de F-waarde voor de saliniteit, zowel voor wat het kwadratisch als het lineair effect betreft, ruim boven de korresponderende F-waarden voor de temperatuur uitstijgt. De isoplethen zijn echter binnen het interval 15-120 ‰ evenwijdig met de X_1 -as, wat aanwijst dat de overleving binnen dit interval konstant blijft onafhankelijk van de saliniteit. De hoge significantie van de faktor saliniteit is dan ook vooral toe te schrijven aan de drastische afname van de overleving beneden de 15 ‰. De grote mortaliteit bij lage saliniteiten werd voor dit ras eveneens vastgesteld door Von Hentig (1971). De relatief lage F-waarden die voor de faktor temperatuur kunnen genoteerd worden, zijn vooral het gevolg van de minder uitgesproken stijging van de mortaliteit bij de hoogste testtemperaturen en reflekteren dan ook de vrij goede tolerantie van Great Salt Lake-Artemia voor hoge temperaturen. Dit ras is dus vrij eurytherm binnen het uitgeteste temperatuurinterval. Zo benadert het omtrekdiagramma; dat overeenstemt met een overleving van 70 % een temperatuur van 35°C. De optimale temperatuur-saliniteitskombinatie die een maximale overleving van 97,5 % oplevert, is gesitueerd bij 20,4°C en 40,5 ‰. De relativiteit van deze "piekwaarden" dient hier echter nogmaals onderstreept te worden. Overlevingscijfers van minstens 90 % komen immers bij 20°C in een saliniteitsinterval van 15 tot 120 ‰ voor. Bij een saliniteit van 30 à 120 ‰ omvat de isopleeth voor 90 % overleving het gebied van 18° tot bijna 30°C.

In tegenstelling tot de bevindingen van Sorgeloos et al. (1976) die een duidelijke antagonistische interactie noteerde tussen de temperatuur en de saliniteit is hier slechts een geringe interactie waarneembaar

TABEL XLV. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Great Salt Lake

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	7	45	50	40	48
	6	40	46	44	46
	13	41	42	48	48
22	6	41	50	48	46
	3	39	48	50	49
	1	45	46	46	49
26	2	39	44	44	42
	0	36	47	45	46
	2	41	48	49	43
30	1	40	50	41	39
	0	29	44	48	45
	1	28	46	42	37
34	0	33	40	40	40
	1	35	31	35	28
	0	28	23	30	27

F-waarden

X_1 lineair : 724,9**

X_2 lineair : 55,0**

X_1 kwadratisch : 120,2**

X_2 kwadratisch : 18,0**

$X_1 \times X_2$: 6,2*

$$\text{Regressievergelijking } Y^{0,74} = 5,0857 + 57,762 X_1^{-0,44} + 3561,6 X_2^{-1,59} - 189,98 X_1^2(-0,44) - 0,239 \cdot 10^6 X_2^2(-1,59) + 1933,33 X_1^{-0,44} X_2^{1,59}$$

TABEL XLVI. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Chaplin Lake

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	0	1	44	45	35
	0	1	47	40	32
	0	3	47	47	41
22	0	2	47	40	32
	0	1	43	34	29
	0	2	41	32	23
26	0	6	39	24	13
	0	17	39	17	9
	0	16	36	24	8
30	0	9	23	14	12
	0	16	33	13	8
	1	10	29	12	8
34	0	11	13	3	0
	0	11	14	10	0
	0	8	20	3	0

F-waarden

X_1 lineair : 279,3**

X_2 lineair : 51,8**

X_1 kwadratisch : 331,7**

X_2 kwadratisch : 6,8**

$X_1 \times X_2$: 94,4**

$$\text{Regressievergelijking } Y^{0,34} = -25,076 + 25,154 X_1^{0,21} + 0,6637 \cdot 10^{-6} X_2^{4,59} - 0,05364 X_1^2(0,21) - 0,1312 X_2^2(4,59) - 0,2975 \cdot 10^{-6} X_1^{0,21} X_2^{4,59}$$

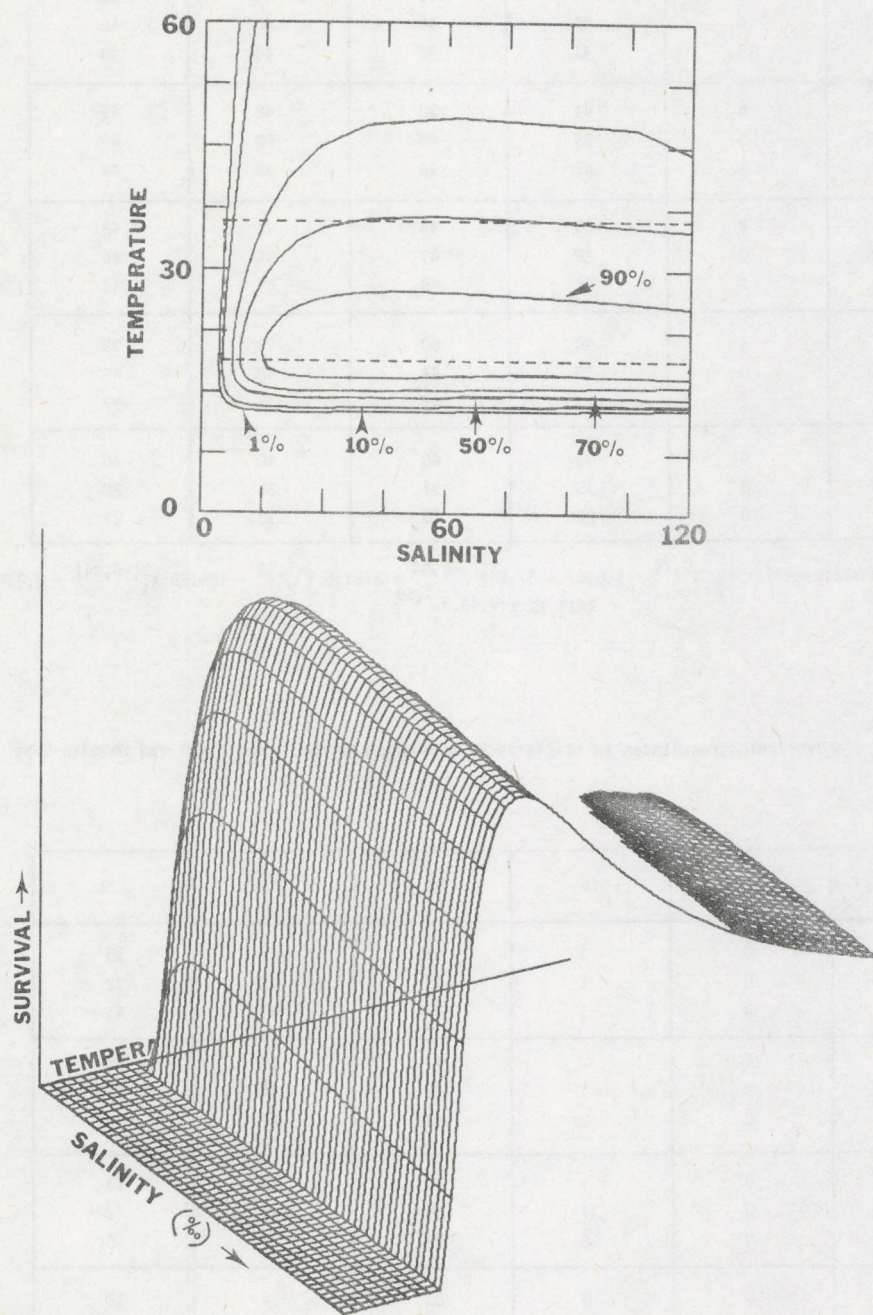


Fig.54. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Great Salt Lake

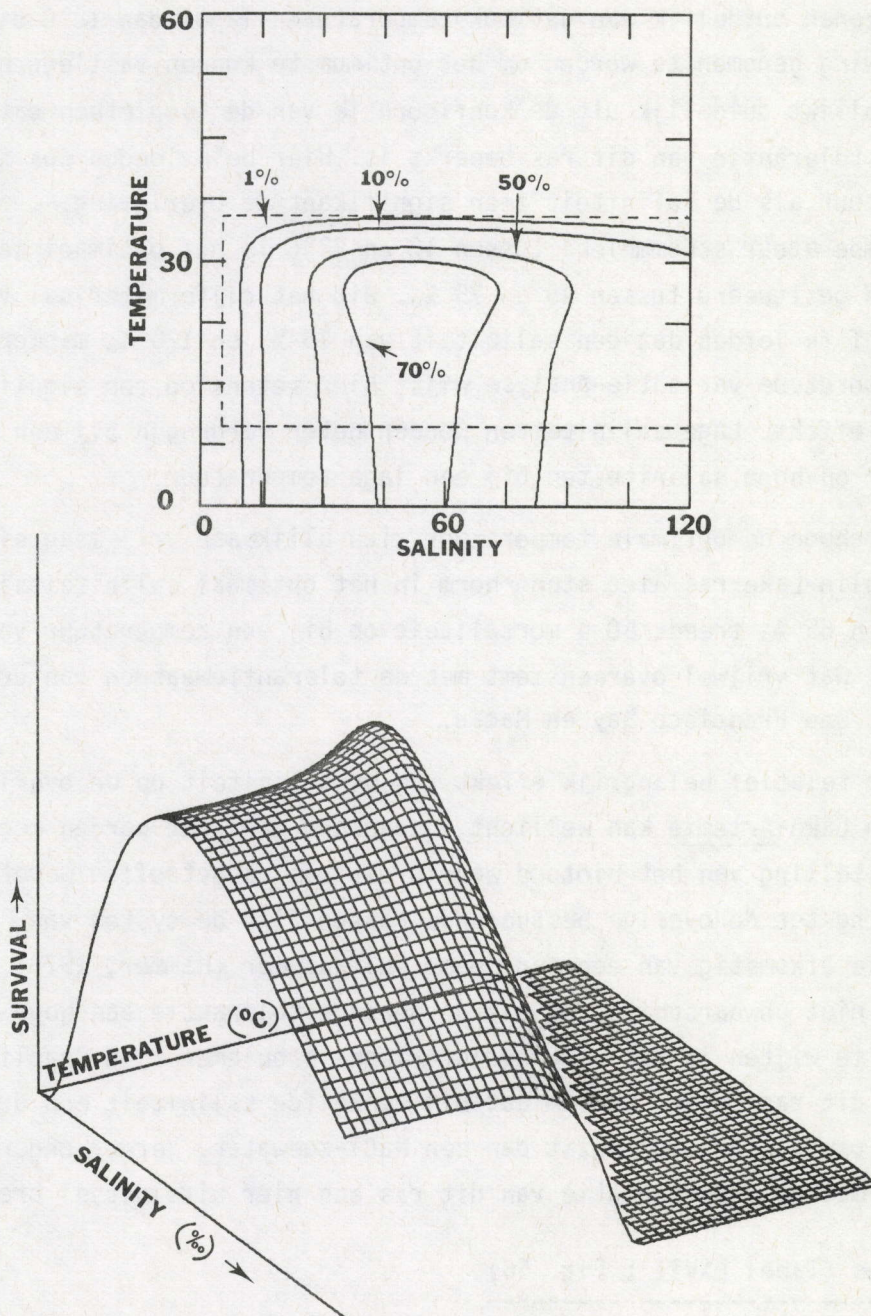


Fig.55. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Chaplin Lake

(signifikant op het 0,05 niveau), waarbij lage temperaturen de tolerantie voor lage saliniteiten een weinig favoriseren.

Het respons-oppervlak van de Chaplin Lake-Artemia is duidelijk verschillend qua vorm ten opzichte van de overige bestudeerde rassen van de Artemia franciscana-soort. De driedimensionale en tweedimensionale grafieken tonen duidelijk aan dat ook temperaturen lager dan 18°C dienen in beschouwing genomen te worden om het optimum te kunnen vastleggen. Bovendien blijkt duidelijk uit de configuratie van de isoplethen dat de saliniteitstolerantie van dit ras beperkt is. Hier beïnvloeden dus zowel de temperatuur als de saliniteit zeer significant de overleving. Bij een temperatuur schommelend tussen 18 en 22°C is het optimaal saliniteitsgebied gesitueerd tussen 45 en 75 ‰. Uit het cijfermateriaal valt duidelijk af te leiden dat een saliniteit van 15 ‰ en 120 ‰ minder goed verdragen wordt. De variantie-analyse wijst hier tevens op een significant interactie-effekt. Lage saliniteiten worden beter verdragen bij een hogere temperatuur en hoge saliniteiten bij een lage temperatuur.

Ofschoon de optimale temperatuur zich blijkbaar vrij laag situeert, is het Chaplin Lake-ras niet stenotherm in het optimaal saliniteitsinterval. Tussen 35 en 65 ‰ treedt 50 % mortaliteit op bij een temperatuur van 30°C à 31°C wat vrijwel overeenstemt met de tolerantiewaarden van de rassen van San Francisco Bay en Macau.

Het relatief belangrijk effect van de saliniteit op de overleving der Chaplin Lake-Artemia kan wellicht in verband gebracht worden met de ionensamenstelling van het biotoop waarin dit ras aangetroffen wordt. In tegenstelling tot de overige bestudeerde rassen zijn de cysten van Chaplin Lake afkomstig van een zogenoemd sulfaatmeer (Hammer, 1978). Het is dan ook niet onwaarschijnlijk dat de geringe tolerantie aan hoge saliniteiten te wijten is aan osmoregulatorische problemen : in Chaplin Lake leeft dit ras in een medium dat bij eenzelfde saliniteit een duidelijk lager osmotische druk bezit dan een NaCl-zeewater. Verder onderzoek in verband met de osmoregulatie van dit ras kan hier uitsluitel brengen.

Buenos Aires (Tabel LXVII ; Fig. 56).

Het bisexuele ras van Buenos Aires , behorend tot het Artemia per-similis "sibling species" is gekenmerkt door een zeer brede saliniteits-tolerantie. Het is slechts bij 5 ‰ dat een substantiële mortaliteit optreedt.

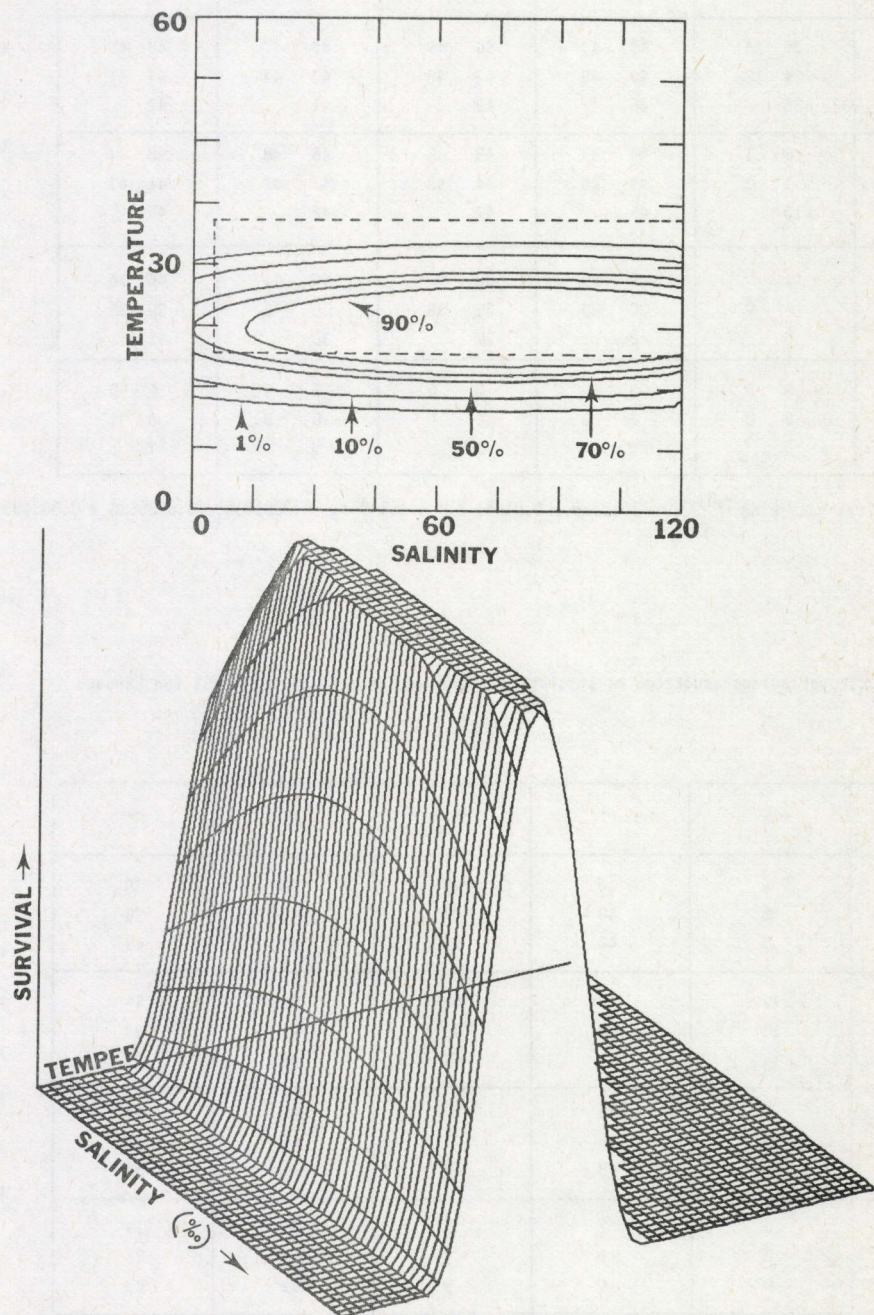


Fig.56. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Buenos Aires

TABEL LYVII Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Buenos Aires

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	40 37 39 25 34	42 40 46 39 44	43 45 42 47 46	43 49 44 41 49	46 43 46 40 46
22	39 26 24 18 26	43 47 48 49 45	50 46 47 48 49	45 47 43 47 41	43 45 47 41 47
26	6 1 1 3 10	44 39 47 46 45	49 45 44 48 47	46 48 47 42 42	48 39 41 43 45
30	1 0 4 0 0	39 39 36 39 40	38 40 35 38 37	40 41 36 42 30	46 38 39 36 41
34	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 1 0

F-waarden

X_1 lineair : 15,9**

X_2 lineair : 345,3**

X_1 kwadratisch : 12,5**

X_2 kwadratisch : 145,3**

$X_1 \times X_2$: 2,0

Regressievergelijking $Y^{0,34} = -10,8128 + 0,01861 X_1 + 1,3459 X_2 - 0,000181 X_1^2 - 0,03055 X_2^2 + 0,0004055 X_1 X_2$

TABEL LWIII Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Larnaca

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	9 8 5	36 40 40	48 49 45	46 47 47	38 39 43
22	14 10 17	48 48 43	48 48 49	41 47 44	34 37 27
26	3 2 8	45 46 48	50 49 48	46 47 41	33 32 36
30	0 0 0	2 1 4	5 1 9	19 23 12	19 22 23
34	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

F-waarden

X_1 lineair : 75,4**

X_2 lineair : 577,4**

X_1 kwadratisch : 14,7**

X_2 kwadratisch : 117,7**

$X_1 \times X_2$: 0,1

Regressievergelijking $Y^{0,298} = 1,77022 + 5,1290 X_1^{-0,43} + 0,0052644 X_2^{2,05} - 13,1198 X_1^2 (-0,43) - 4,8 \cdot 10^{-6} X_2^2 (2,05) + 0,0002424 X_1^{-0,43} X_2^{2,05}$

Daardoor is er toch een significant effect van het zoutgehalte op de overleving, hoewel tussen 15 en 120 ‰ de saliniteitsinvloed verwaarloosbaar is. De berekende optimumwaarde van 77 ‰ heeft dan ook geen betekenis.

Binnen het geschikte saliniteitsinterval is er een uitgesproken temperatuureffect op de overleving waar te nemen. De dichte opeenvolging van de omtrekdiagramma's die respectievelijk 90, 70, 50 en 10 % overleving voorstellen, duidt bovendien op de beperkte tolerantie van het ras van Buenos Aires t.o.v. hogere temperaturen. Boven de 30°C treedt een grote mortaliteit op en bij 34°C is de overleving praktisch nihil. De isopleeth voor 50 % overleving bereikt dan ook maximaal 29°C. Het temperatuuroptimum bij de optimale saliniteit bedraagt 22,5°C. Goede overlevingsresultaten kunnen echter bekomen worden in het temperatuurinterval van 19° tot 26°C bij saliniteiten begrepen tussen 60 en 90 ‰. Vooral bij lagere saliniteiten vernauwt dit interval om een waarde van 22° à 23°C te bereiken bij 15 ‰. Uit de variantie-analyse blijkt tenslotte dat er voor dit ras geen significante interactie optreedt tussen de temperatuur en de saliniteit.

Larnaca (Tabel LXVIII ; Fig. 57) en Barbanera (Tabel LXIX ; Fig. 58).

Deze Europese bisexuele rassen behoren tot het Artemia tunisiana (Bowen et al., 1978) of Artemia salina (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982) "sibling species". Net zoals voor de meeste onderzochte rassen is de configuratie der isoplethen van het ras van Larnaca duidelijk evenwijdig met de saliniteitsas, wat een hoge tolerantie voor deze faktor aan het licht brengt. Zeer goede overlevingsresultaten worden geboekt vanaf een zoutgehalte van 15 ‰. Bij 120 ‰ is de mortaliteit, vooral bij de lagere temperaturen, echter iets toegenomen. De Barbanera-larven kennen eveneens een zeer goede overleving vanaf 15 ‰. De stijging van de mortaliteit bij 120 ‰ is hier nog meer uitgesproken.

De tolerantie voor hoge temperaturen is bij beide rassen zeer beperkt. De isopleeth korresponderend met een overleving van 50 % reikt voor het ras van Larnaca slechts tot een temperatuur van 27°C, terwijl voor het Barbanera-ras een waarde van 28°C bereikt wordt.

De berekende optimale temperatuur- en saliniteitskombinatie is voor het Larnaca-ras gesitueerd bij 21,7°C en 42 ‰. Een mortaliteit kleiner dan 10 % kan echter genoteerd worden in het interval tussen 18° en 25°C binnen een saliniteitsgebied van 15 tot 90 ‰. De larven van Barbanera vertonen een optimale overleving bij 22,3°C en 38 ‰. Voor dit ras is er een duidelijk afgeijnd gebied waarbinnen minstens 90 % der larven overleven.

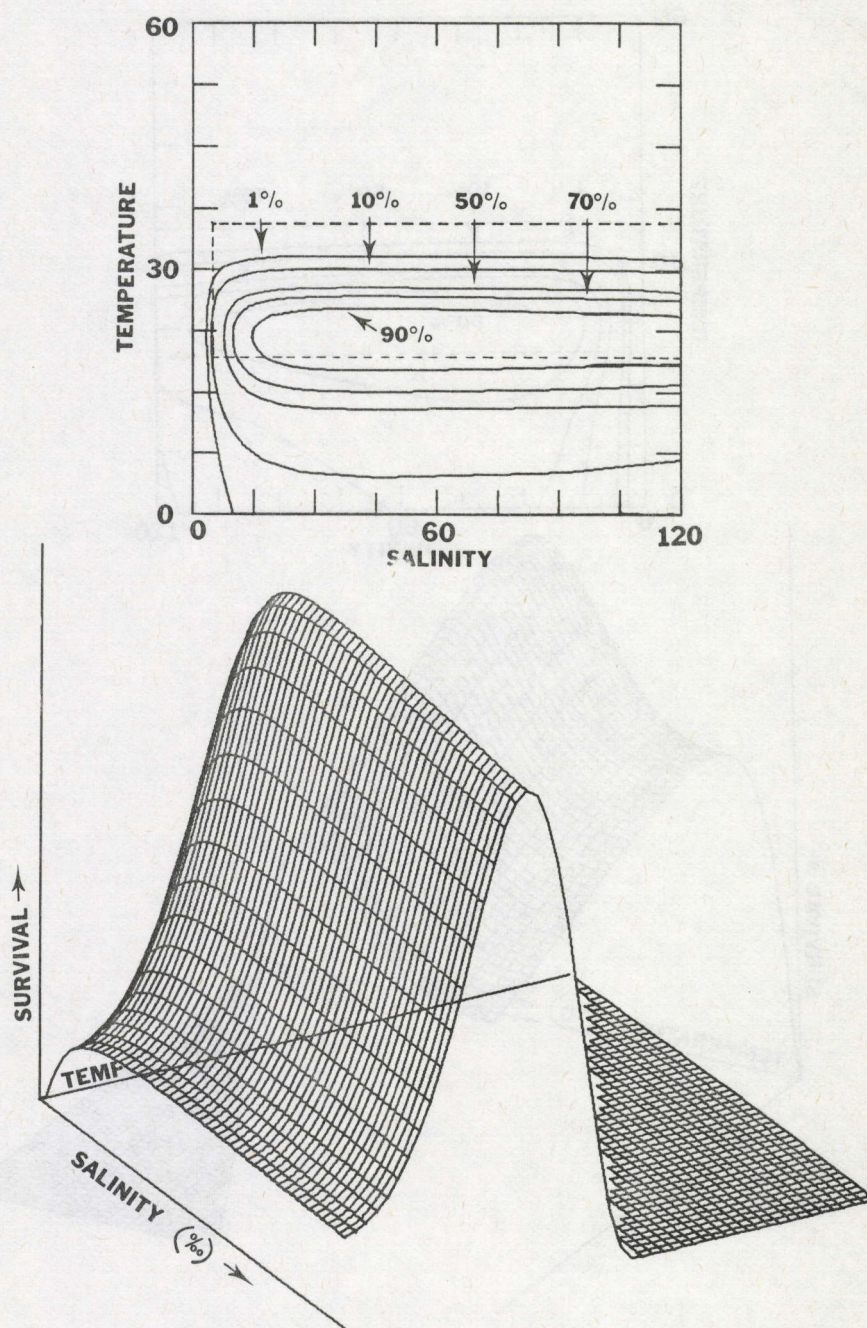


Fig.57. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Larnaca

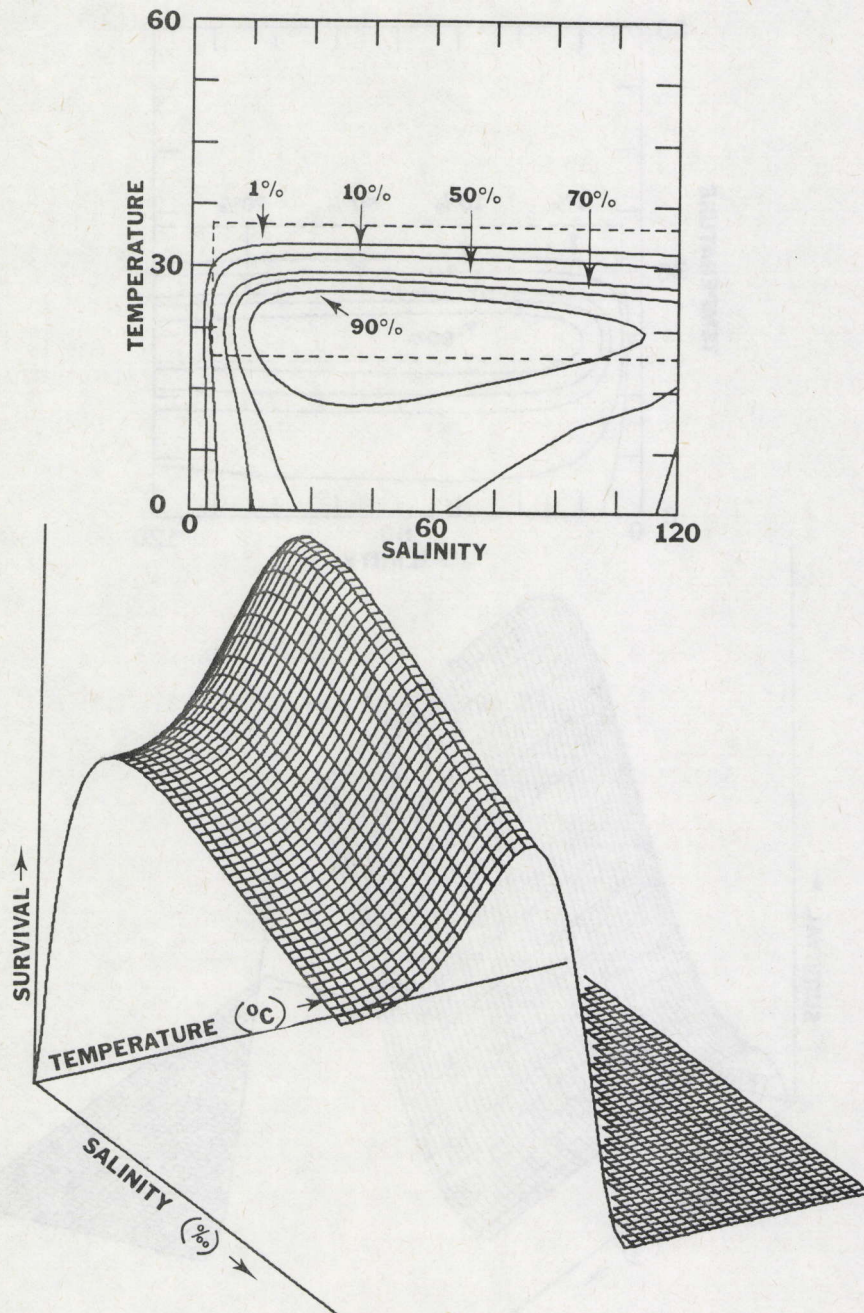


Fig.58. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Barbanera

TABEL LXIX Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Barbanera

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\% \text{ } ^\circ\text{C}) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	18 13 10	42 49 50	48 49 46	38 47 46	38 37 42
22	9 2 10	49 50 49	47 47 48	47 46 45	33 33 36
26	0 1 6	47 50 49	50 49 48	45 46 48	40 33 37
30	0 0 2	13 16 22	31 33 29	14 13 12	37 36 26
34	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

X_1 lineair : 45,4 **
 X_2 lineair : 382,9 **
 X_1 kwadratisch : 34,9 **
 X_2 kwadratisch : 66,4 **
 $X_1 \times X_2$: 0,6

Regressievergelijking $y^{0,345} = -32,2711 + 105,50X_1^{-0,10} + 0,0000557X_2^{3,07} - 76,3583 X_1^2 (-0,10) - 3,10^{-9}X_2^2 (3,07) + 4,22 \cdot 10^{-5}X_1^{-0,10}X_2^{3,07}$

TABEL LXX Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Shark Bay

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\% \text{ } ^\circ\text{C}) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	0 0 0 0 0	34 39 33 46 41	37 41 46 48 38	43 40 45 41 47	38 38 36 35 42
22	0 0 0 0 0	37 35 42 38 34	45 46 38 43 44	44 46 46 46 49	47 46 45 41 45
26	0 0 0 0 0	39 38 46 35 47	41 47 47 45 44	43 36 38 38 39	42 36 36 40 42
30	0 0 0 0 0	17 13 24 17 26	16 20 12 11 16	17 17 16 15 12	16 12 10 17 14
34	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0

F-waarden
 X_1 lineair : 43,8 **
 X_2 lineair : 97,3 **
 X_1 kwadratisch : 45,7 **
 X_2 kwadratisch : 54,4 **
 $X_1 \times X_2$: 7,1 **

Regressievergelijking $y^{0,18} = 5,8309 + 0,04807 X_1 + 0,57903 X_2 - 0,000225X_1^2 - 0,01214 X_2^2 - 0,000497 X_1 X_2$

Bij een temperatuur van 22°C strekt dit gebied zich uit van 15 tot 110 ‰. Bij de optimale saliniteit (30 à 45 ‰) wordt een goede overleving bekomen tussen 18° en 25°C. Naarmate de saliniteit verder afwijkt van dit optimum versmalt het gunstige temperatuurinterval.

Voor geen enkel van beide rassen kon een significante interactie tussen temperatuur en saliniteit vastgesteld worden.

Shark Bay (Tabel LXX ; Fig. 59)

Uit de tabel der resultaten blijkt dat alle larven van dit diploïde parthenogenetische ras afgestorven zijn bij de laagste saliniteit (5 ‰) en de hoogste temperatuur (34°C). De tweedimensionale figuur wijst hier dan ook op een relatief geringe tolerantie voor lage salinititeiten en hoge temperaturen. Vooral tussen 26° en 30°C kan een abrupte toename van de mortaliteit genoteerd worden. De isopleeth die overeenstemt met een mortaliteit van 50 % bereikt onder optimale saliniteitskondities 28°C.

De berekende optimum-kombinatie bevindt zich bij 22,1°C en 82 ‰. De driedimensionale grafiek laat echter een plateau onderkennen wat duidt op een breed gebied begrensd tussen 40 en 120 ‰ en 18 en 27°C voor een optimale overleving. Het temperatuurinterval vernauwt echter naarmate de saliniteit afwijkt van het optimum.

Een significante interactie tussen temperatuur en saliniteit wijst op een lichteresistentie aan hoge temperaturen bij een lagere saliniteit. Deze interactie is echter onbeduidend ten opzichte van de effecten van temperatuur en saliniteit afzonderlijk.

Tuticorin (Tabel LXXI ; Fig. 60)

In vergelijking tot het diploïde ras van Shark Bay vertoont het triploïde parthenogenetische ras van Tuticorin een betere resistentie ten opzichte van hogere temperaturen en in geringe mate voor lagere salinititeiten. De overwegend horizontale configuratie der isoplethen wijst op een uitgesproken temperatuureffekt, hoewel slechts bij een saliniteit van 35 ‰ een maximale overleving kan genoteerd worden.

De berekende optimum-temperatuur (24,7°C) korresponderend met een saliniteit van 91 ‰ is de hoogste van alle onderzochte Artemia-rassen. Dit ras gedijt dus duidelijk goed bij relatief hoge temperaturen (optimumgebied 20° - 29°C bij een saliniteit variërend van 60 - 100 ‰). De tolerantie is nochtans beperkt ; 50 % overleving kan bereikt worden bij 32 à 33°C. In tegenstelling tot de overige Artemia-rassen tolereren de organismen van Tuticorin niet goed lage temperaturen : bij 18°C treedt reeds een aanzienlijke mortaliteit op.

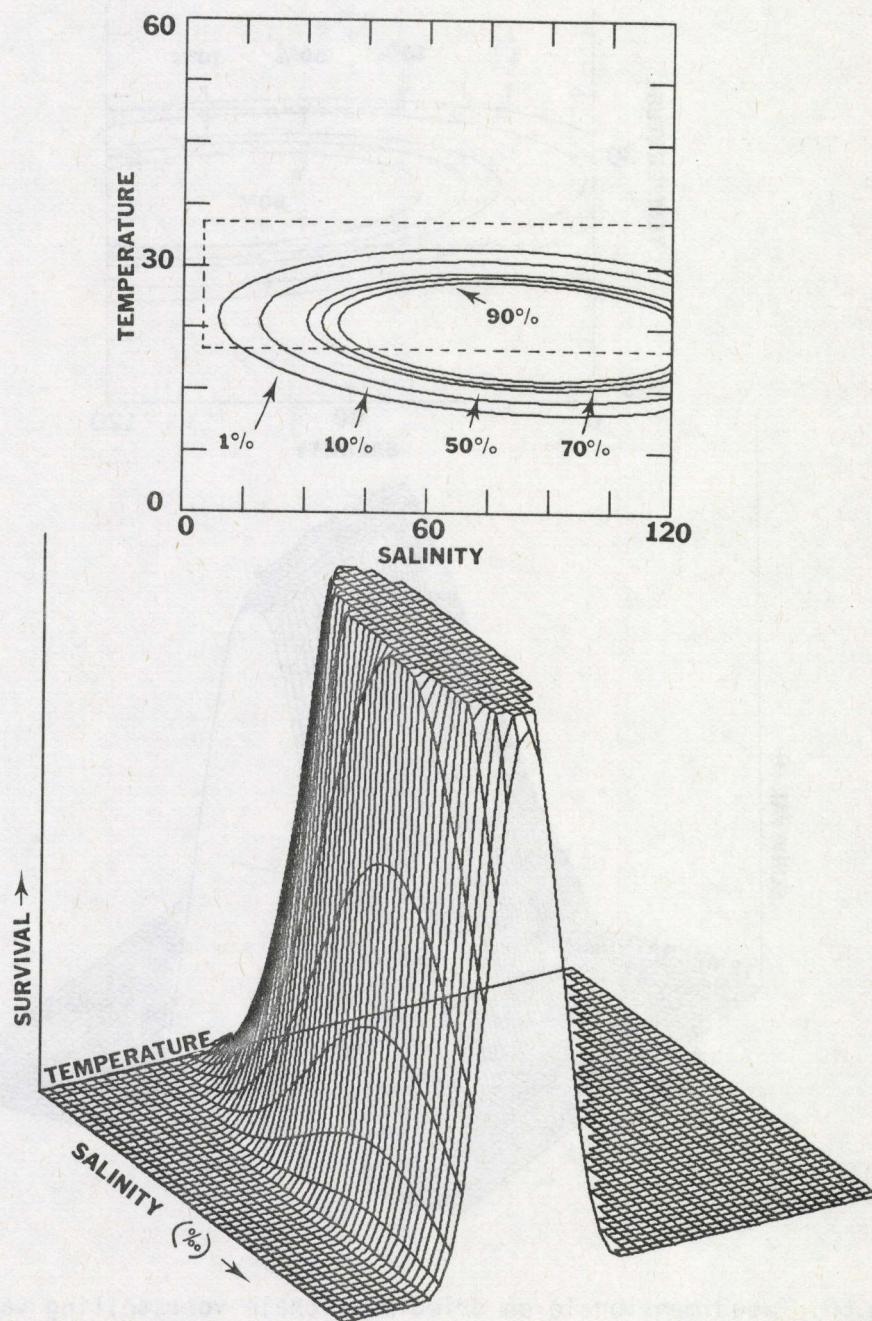


Fig.59. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Shark Bay

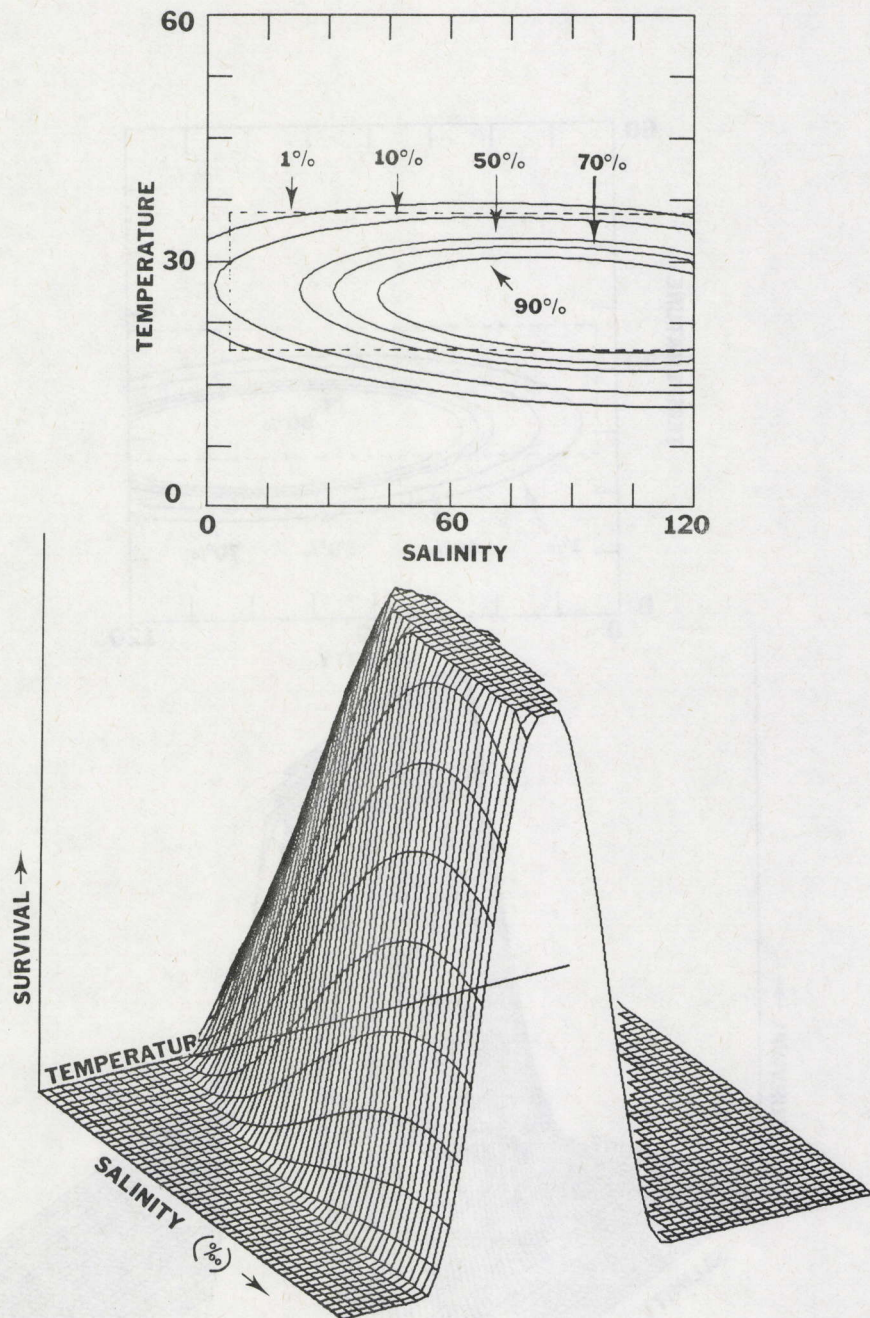


Fig.60. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Tuticorin

TABEL LXXI. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Tuticorin

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\% \text{ } ^\circ\text{C}) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	0 0 0 0 0	0 0 0 0 4	40 43 36 38 38	21 20 22 17 16	38 43 47 44 45
22	3 0 2 0 0	40 41 41 38 47	48 47 47 48 49	44 37 39 36 44	46 48 47 45 50
26	2 0 9 0 0	46 43 49 47 49	48 49 50 47 50	43 39 37 37 40	47 48 45 48 46
30	6 1 1 0 4	42 45 43 46 39	41 48 44 45 48	34 40 40 41 42	36 45 42 46 42
34	0 0 0 1 0	8 18 18 18 18	15 34 7 19 7	0 0 0 5 0	29 28 27 30 26

F-waarden

X_1 lineair : 50,7**
 X_2 lineair : 0,3
 X_1 kwadratisch : 18,5**
 X_2 kwadratisch : 37,2**
 $X_1 \times X_2$: 7,6**

Regressievergelijking $y^{0,42} = -21,313 + 0,1296 X_1 + 1,8137 X_2 - 0,00478 X_1^2 - 0,03355 X_2^2 - 0,001716 X_1 X_2$

TABEL LXXII Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Lavalduc

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\% \text{ } ^\circ\text{C}) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	8 8 10 9 4	50 44 42 47 49	47 42 48 49 49	46 41 44 49 49	48 46 50 48 49
22	5 4 4 5 1	44 42 47 49 48	42 47 47 49 42	37 44 49 46 41	49 48 48 46 46
26	4 0 1 1 1	48 47 48 44 48	48 47 40 47 42	45 45 44 44 40	45 46 42 44 47
30	1 0 0 0 1	50 44 48 49 45	47 48 45 46 40	38 48 38 44 44	42 48 46 47 49
34	0 0 0 0 0	9 8 21 6 8	14 10 13 8 13	8 4 10 7 9	29 11 8 14 13

F-waarden

X_1 lineair : 51,17**
 X_2 lineair : 56,56**
 X_1 kwadratisch : 38,8**
 X_2 kwadratisch : 15,7**
 $X_1 \times X_2$: 0,4

Regressievergelijking $y^{0,59} = -8,593 + 0,1704X_1 + 1,53715X_2 - 0,001156X_1^2 - 0,036448X_2^2 + 0,0006347 X_1 X_2$

De interactie tussen temperatuur en zoutgehalte is significant doch niet zeer uitgesproken. De laagste testtemperatuur wordt iets beter verdragen bij een hogere saliniteit.

Royan (1980) die de overleving van de larven van dit ras gedurende 4 dagen volgde bij 24, 27 en 30°C en saliniteiten begrepen tussen 10 en 70 ‰ noteerde de beste overleving bij 27°C en 30-40 ‰. Het dient echter aangestipt dat over het algemeen een grote sterfte optrad, wat de geschiktheid van zijn proefmethodiek in vraag stelt.

Lavalduc (Tabel LXXII ; Fig. 61), Tientsin (Tabel LXXIII ; Fig. 62) en Margherita di Savoia (Tabel LXXIV ; Fig. 63)

Deze 3 parthenogenetische populaties zijn gemengd diploïd en tetraploïd (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982 ; Barigozzi pers. meded.). Hun overlevingspatroon in functie van de temperatuur en de saliniteit is vrij gelijklopend. Vooral de rassen van Lavalduc en Tientsin vertonen een grote analogie.

Uit de variantie-analysen blijkt dat de saliniteit en de temperatuur afzonderlijk zeer significant de overleving beïnvloeden. De interactie tussen de 2 beschouwde factoren is echter in geen enkel geval significant. De configuratie van de omtrekdiagramma's wijst op een predominantie van de temperatuur en op de aanwezigheid van een relatief groot optimumgebied. Dit gebied omvat steeds ongeveer dezelfde combinaties, namelijk ongeveer 35 tot 120 ‰ bij 22° C en 18° à 30° C bij 80 à 90 ‰. De berekende optima situeren zich bij 21,8°C en 80 ‰ voor Lavalduc, 22,9°C en 83 ‰ voor Tientsin en 22,2°C en 79 ‰ voor Margherita di Savoia. De larven van Margherita di Savoia vertonen echter reeds een stijgende mortaliteit bij de hoogste saliniteit wat niet het geval is bij de larven van Tientsin en Lavalduc. Dit laatste ras blijkt trouwens iets beter lagere saliniteiten te tolereren dan de overige twee.

Vooraf de rassen van Lavalduc en Tientsin blijken relatief tolerant te zijn ten opzichte van hogere temperaturen. 50 % overleving kan immers bereikt worden tot een temperatuur van 33°C. De testorganismen van Margherita di Savoia zijn iets minder resistent (50 % mortaliteit bij 32°C) en sterven massaal af tussen 30° en 34°C. Dit konfirmeert de observaties van Trotta (pers. meded.) dat deze populatie in de zomer, wanneer de watertemperatuur boven de 30°C uitstijgt compleet geëlimineerd wordt.

TABELLXXIII. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Tientsin

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	0 1 3 2 1	35 44 39 37 44	47 46 44 42 45	44 44 38 42 40	41 44 41 45 45
22	0 2 2 0 3	43 47 45 40 38	48 47 42 46 44	42 42 44 47 43	48 41 49 46 43
26	2 1 10 0 2	42 42 36 42 33	45 46 45 45 42	45 48 40 43 44	48 46 50 44 46
30	0 0 9 2 2	37 40 29 36 29	40 41 41 43 44	42 44 37 47 46	46 40 44 38 45
34	0 0 0 0 0	8 8 15 8 10	17 14 12 13 14	7 1 2 1 3	20 13 25 18 19

F-waarden

X_1 lineair : 73,3 **

X_2 lineair : 37,6 **

X_1 kwadratisch : 45,8 **

X_2 kwadratisch : 25,7 **

$X_1 \times X_2$: 0,4

Regressievergelijking $y^{0,75} = -40,908 + 0,4547 X_1 + 4,440 X_2 - 0,002553 X_1^2 - 0,09463 X_2^2 - 0,001248 X_1 X_2$

TABEL LXXIV. Overlevingsresultaten en statistische gegevens voor het Artemia-ras van Margherita di Savoia

$\begin{matrix} S \\ T \\ (\%) \\ (^{\circ}C) \end{matrix}$	5	15	35	70	120
18	0 1 0 1 0	45 48 47 42 46	48 42 46 47 48	48 48 48 41 42	38 46 44 38 36
22	0 1 0 0 0	42 42 42 35 38	48 48 46 44 44	44 44 45 46 46	38 44 40 46 42
26	0 0 0 0 0	40 44 40 38 40	46 48 44 45 48	42 46 38 42 44	38 36 28 42 40
30	0 0 0 0 0	16 30 28 25 30	48 42 44 45 41	45 44 41 40 40	37 36 40 43 36
34	0 0 0 0 0	0 1 2 1 0	0 1 2 3 1	2 1 1 2 0	4 2 0 3 6

F-waarden

X_1 lineair : 55,4 **

X_2 lineair : 45,9 **

X_1 kwadratisch : 58,7 **

X_2 kwadratisch : 18,7 **

$X_1 \times X_2$: 0,1

Regressievergelijking $y^{0,36} = -6,941 + 0,1014 X_1 + 0,7854 X_2 - 0,000625 X_1^2 - 0,01745 X_2^2 - 0,000149 X_1 X_2$

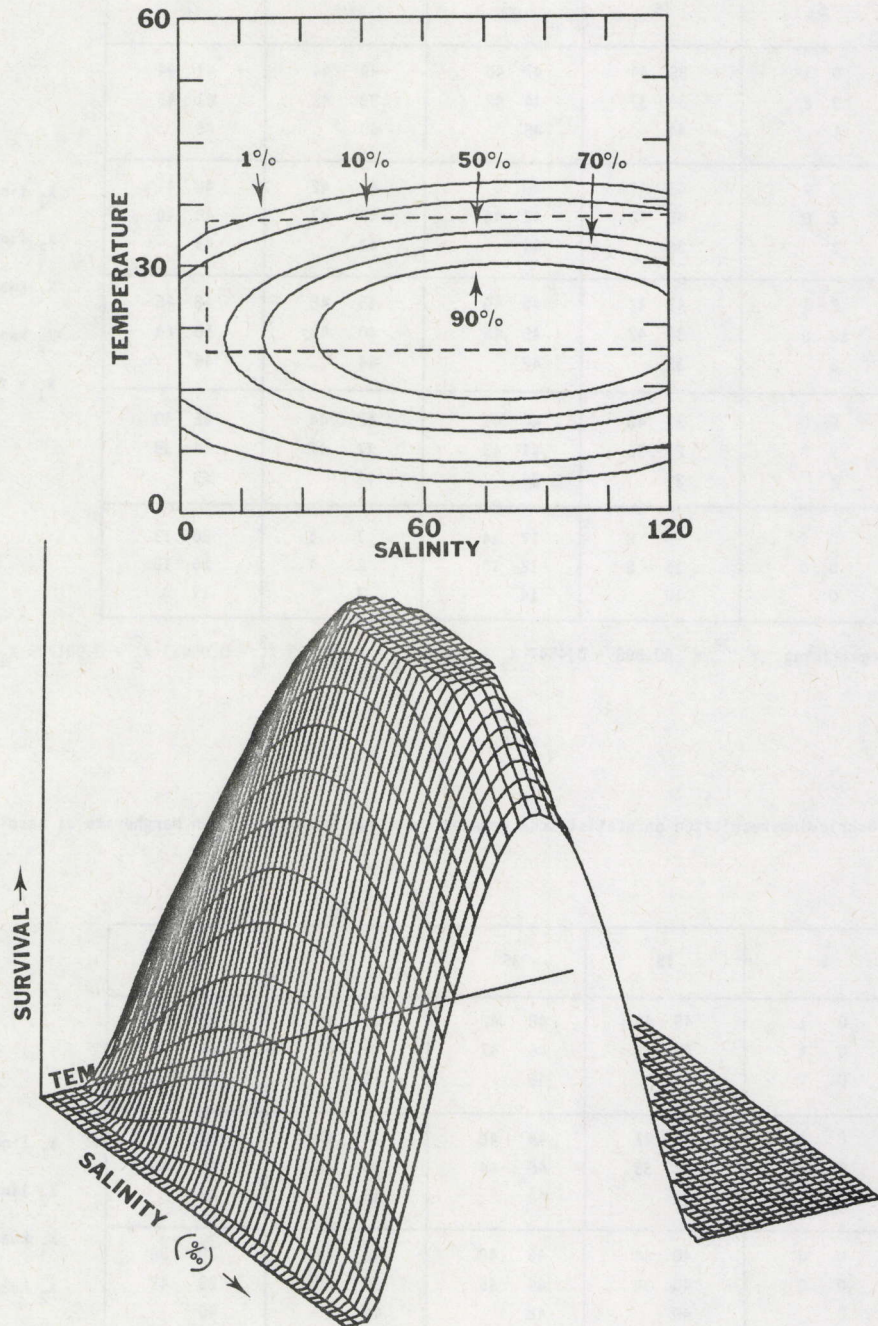


Fig.61. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Lavalduc

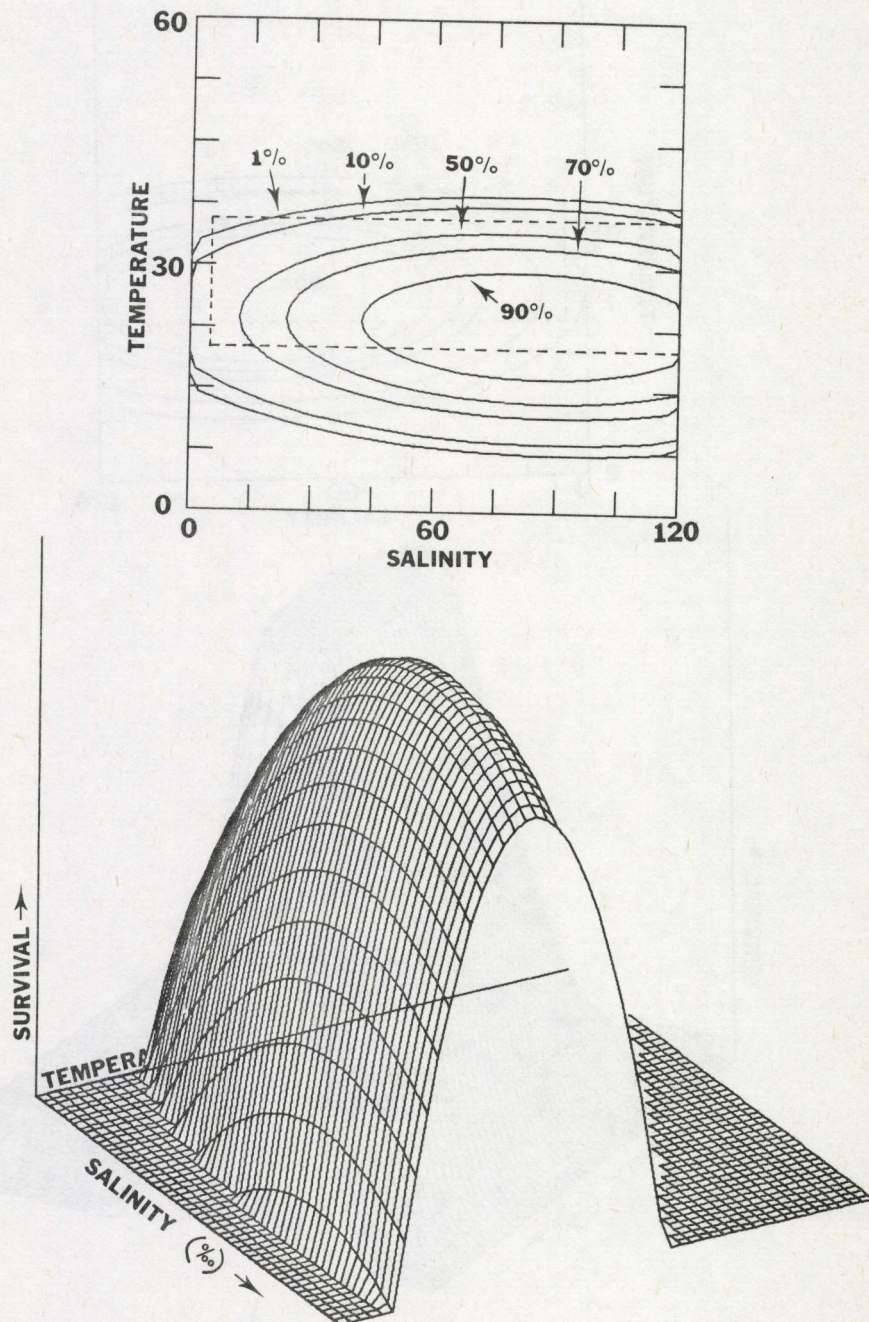


Fig.62. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Tientsin

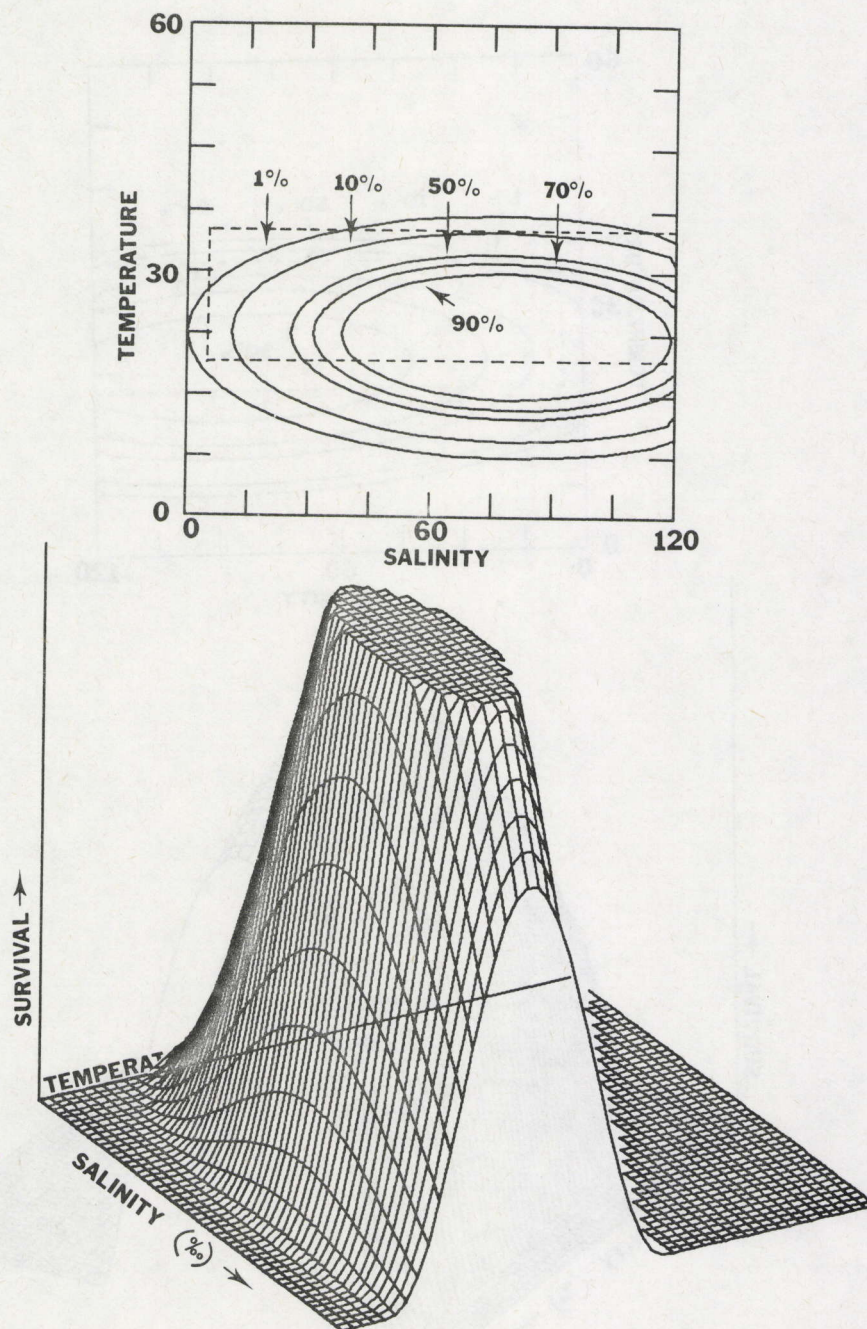


Fig.63. Tweedimensionale en driedimensionale voorstelling van de overlevingsresultaten van het Artemia-ras van Margherita di Savoia

Algemene besluiten

Uit het geheel der vaststellingen kan besloten worden dat alle onderzochte rassen een hoge tolerantie bezitten ten opzichte van de temperatuur en vooral de saliniteit. Geen enkel ras vertoont een uitgesproken stenotherm of stenohalien karakter. Bovendien is ook het voorkeursgebied vrij breed. Zo bezitten op uitzondering van het ras van Chaplin Lake, alle overige rassen een gemeenschappelijk preferentiegebied waarin de mortaliteit minder dan 10 % bedraagt (zie Fig. 64). Dit gebied is gesitueerd binnen het temperatuurinterval 19°-25°C en binnen het saliniteitsinterval 35-110 ‰.

De uitzonderlijke positie ingenomen door de Chaplin Lake-Artemia kan toegeschreven worden aan het feit dat enkel dit ras afkomstig is van een sulfaatmeer (Hammer, 1978). Het kweekmedium met een analoge samenstelling als zeewater was wellicht minder geschikt voor dit ras. Een variantieanalyse waarbij alle overlevingscijfers van elk ras gegroepeerd werden toonde aan dat de globale overleving van dit ras significant lager was dan voor alle andere rassen, wat de hierboven aangestipte hypothese bevestigt. De verminderde leefbaarheid van nauplii afkomstig van sulfaat- en carbonaatrassen in een chloride-medium werd eveneens aangetoond door respectievelijk Collins (1980) en Dana (1981).

Hoewel voor de overige rassen de tolerantie ten opzichte van het zoutgehalte zeer groot is, kunnen duidelijke verschillen genoteerd worden tussen de diverse rassen vooral met betrekking tot de lagere saliniteiten. Een tolerantieinterval van 3 tot 300 ‰ voor Artemia, zoals door Bayly (1972) vooropgesteld, is zeker niet voor alle Artemia-rassen geldig. Bij 5 ‰ trad, in overeenstemming met de gegevens van Von Hentig (1971) en Kristensen en Hulscher-Emeis (1972), voor de meeste rassen reeds een hoge mortaliteit op. De larven van Buenos Aires deden het echter significant beter bij deze saliniteit. Reeds bij 15 ‰ kenden de meeste rassen een lichte overlevingsvermindering. Een variantie-analyse waarbij alle overlevingsresultaten bij 15 ‰ van elk ras gegroepeerd werden, toonde echter aan dat enkel Chaplin Lake-Artemia een significant hogere mortaliteit kenden. Vooral de rassen van Buenos Aires, Barbanera, Larnaca en Lavalduc lieten een goede overleving noteren bij 15 ‰ in het meest geschikte temperatuurgebied. Deze rassen die blijkbaar goed lage saliniteiten tolereren genieten dan ook de voorkeur bij de raskeuze voor het gebruik van geothermale wateren met lage saliniteit (Brisset et al., 1982) voor kweekdoeleinden.

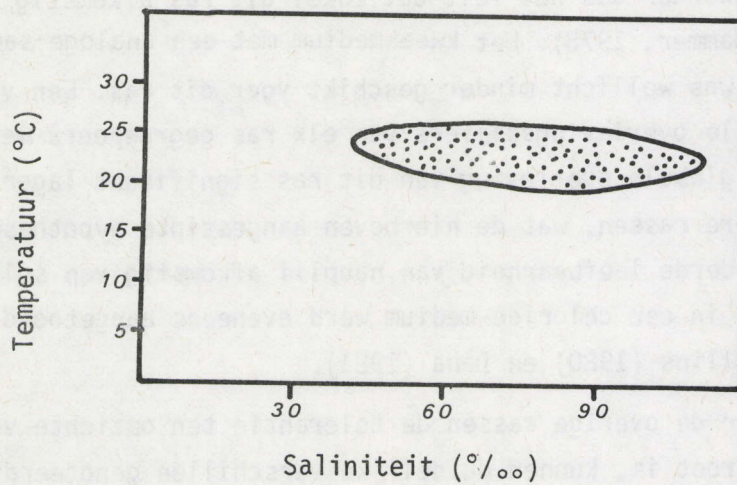


Fig.64. Het gemeenschappelijk temperatuur- en saliniteitsgebied waarbij de mortaliteit kleiner is dan 10%

Het was niet mogelijk een verband te leggen tussen de saliniteits-tolerantie der diverse Artemia-rassen en het saliniteitsregime van hun biotopen. Enerzijds zijn de verschillen in tolerantie relatief gering en anderzijds zijn de literatuurgegevens omtrent het zoutgehalte der biotopen (gemiddelde en variatie) ontoereikend en is het voorkomen van Artemia mede afhankelijk van de saliniteitstolerantie van de lokaal aanwezige predatoren.

De configuratie van de isoplethen toont duidelijk aan dat de temperatuur voor alle onderzochte rassen de grootste invloed uitoefent op de overleving. De lage temperaturen worden over het algemeen goed verdragen, op uitzondering van het ras van Tuticorin dat bij 18°C hierin significant afwijkt van de overige rassen. De mortaliteit neemt in de meeste gevallen aanzienlijk toe tussen 30° en 34°C wat goed overeenstemt met veldobservaties (Anderson, 1958a; Al-Uthman, 1971 ; Kristensen en Hulscher Emeis, 1972 ; Scelzo en Voglar, 1980). Er treedt echter een aanzienlijke differentiatie op tussen de diverse rassen voor wat betreft hun tolerantie voor hoge temperaturen. De rassen van Larnaca, Barbanera en Shark Bay vertonen een substantiële daling der overleving bij 30°C en een zeer hoge mortaliteit bij 34°C. Dit laatste is eveneens het geval voor de Artemia van Buenos Aires. De rassen afkomstig van San Francisco Bay, Macau, Barotac Nuevo en Chaplin Lake hebben bij alle saliniteiten een verhoogde mortaliteit bij 30°C doch laten een min of meer beduidende overleving noteren bij 34°C. Bij de rassen van Tuticorin, Tientsin, Margherita di Savoia, Lavalduc en Great Salt Lake is de stijging in mortaliteit bij 30°C praktisch onbestaande of beperkt tot een specifiek saliniteitsgebied. Aan de hand van een variantie-analyse waarbij de overlevingscijfers per ras bij alle saliniteiten onder één noemer gebracht werden, kon vastgesteld worden dat bij 34°C de globale overleving van de Great Salt Lake-Artemia significant hoger was dan deze der andere onderzochte rassen. Bij de rasselektie voor inokulatieprojecten in tropische streken, zoals Zuid-Oost Azië waar temperaturen van 30°C tot 35°C regel zijn (Vos et al., 1983), biedt de keuze van dit ras dan ook de beste perspectieven voor de overlevingskansen van de populatie. Het dient echter opgemerkt dat de resultaten van deze studie slechts een eerste leidraad vormen bij de raskeuze. Verder onderzoek in verband met de produktiemogelijkheden en het reproductiegedrag in functie van de temperatuur zijn nodig om hier uitsluitel te brengen. Een goede overleving van de populatie is echter een eerste vereiste om enige kans op sukses te hebben.

Hoewel de verschillen in tolerantie tussen de diverse Artemia-rassen in dit stadium niet eenduidig kunnen verklaard worden, zijn er toch aanwijzingen die leiden in de richting van de genetische differentiatie tussen en binnen de "sibling species".

Zo vertonen de beide Europese bisexuele rassen van het Artemia tunisiana (Bowen et al., 1978) of Artemia salina (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982) "sibling species" de geringste resistentie ten opzichte van hoge temperaturen. Dit blijkt niet alleen uit de hier bekomen resultaten maar eveneens uit hun verminderde ontluikbaarheid bij hoge temperaturen (zie Hoofdstuk 8.4.3.).

De parthenogenetische rassen vertonen een betere tolerantie voor hoge temperaturen. De resistentie van het diploïde ras van de Shark Bay is echter duidelijk geringer dan deze der triploïde en gemengde diploïde-tetraploïde rassen. Dit wijst erop dat in overeenstemming met de literatuur (Artom, 1931 ; Chapman, 1968 ; Metalli en Ballardin, 1972) polyploïde populaties een grotere genetische variabiliteit bezitten en aldus fysiologisch beter gebufferd zijn tegen extreme milieuomstandigheden, zoals een hoge temperatuur. Abreu-Grobois en Beardmore (1982) konden ook aantonen dat de heterozygositeit toeneemt met de graad van ploïdie.

Het tolerantieverschil tussen de Europese bisexuele en parthenogenetische populaties wordt bevestigd door observaties in de natuur. Amat Domenech (1982) kon inderdaad vaststellen dat in diverse Spaanse biotopen, waar bisexuele en parthenogenetische populaties samen voorkomen, de bisexuele vormen domineren gedurende de koudste maanden terwijl gedurende de warmste periode van het jaar (watertemperaturen van 27 à 32°C) praktisch uitsluitend parthenogenetische populaties voorkomen.

De rassen van het Artemia franciscana "sibling species" illustreren duidelijk dat zich ook binnen hetzelfde "sibling species" tolerantieverschillen kunnen voordoen. Dit is niet verwonderlijk daar ook binnen eenzelfde soort de rassen zich reeds genetisch gedifferentieerd hebben (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982) en anderzijds de organismen genetisch geadapteerd zijn aan hun niche (Kinne, 1970), die voor wat Artemia betreft sterk uiteenlopende karakteristieken vertoont. Voorlopig zijn echter te weinig rassen onderzocht om de temperatuurtolerantie te korreleren met het klimaatregime. Wel is het zo dat in de Artemia-biotopen van Chaplin Lake en San Francisco Bay de temperatuur niet uitstijgt boven respectievelijk 30° en 33°C (Hammer en Haynes, 1978 ; Carpelan, 1957) terwijl in Great Salt Lake de temperatuur kan oplopen tot 40°C (Stephens en Gillespie, 1972).

11.2. Verdere gegevens in verband met de temperatuurtolerantie van diverse Artemia-rassen

Gezien de kritische situatie van het Artemia-cysten aanbod neemt het belang van Artemia-transplantaties en -inokulaties met de dag toe. Aangezien de meeste geschikte inokulatiegebieden zich in de subtropische of tropische gordel bevinden, waar watertemperaturen van 30°C en meer regel zijn (De los Santos et al., 1980 ; Vos et al., 1983) hebben wij ons onderzoek verder toegespitst op de resistentie van diverse Artemia-rassen ten opzichte van hoge temperaturen. Daartoe werd een breed gamma van rassen onderzocht die geselecteerd werden op basis van hun geografische ligging en genetische karakteristieken. Verder werd het adaptatievermogen onderzocht van getransplanteerde of geïnokuleerde rassen.

De overleving van Artemia werd vergeleken bij 34°C en bij zowel 35 als 120 ‰ ; dit ten einde eventuele interacties tussen temperatuur en saliniteit op te sporen. De experimentele procedure was analoog aan deze beschreven voor het gekombineerd temperatuur- en saliniteitsonderzoek. Bij elk experiment werden telkens 5 à 7 rassen uitgetest in 6 parallellen inclusief het ras van Great Salt Lake (oogstjaar 1977) als inwendige standaard. Na een $\arcsin \sqrt{\%}$ -transformatie werden de overlevingsresultaten statistisch geanalyseerd door middel van een variantie-analyse gevolgd door een toets van Duncan.

De overlevingsresultaten van de rassen van eenzelfde oorsprong, (San Francisco Bay), doch geproduceerd in biotopen met een hogere watertemperatuur (Macau, Mundra, Barotac Nuevo en Thailand ; Vos et al., 1983) zijn samengevat in Tabel LXXV. Hieruit blijkt dat laatstgenoemde rassen beter een hoge temperatuur verdragen dan het San Francisco Bay-moederras dat voorkomt in een meer gematigd klimaatregime. De variatie in overlevingscijfers in functie van de saliniteit is erg opvallend : zo is de overleving voor Artemia uit Mundra en Macau alleen bij 120 ‰ significant hoger dan deze der San Francisco Bay-Artemia. In elk geval bevestigen deze resultaten dat adaptatie aan hogere watertemperaturen mogelijk is en dat de capaciteit om beter hogere temperaturen te tolereren genetisch doorgegeven wordt aan de nakomelingen. Niettemin dient het beperkt karakter van deze adaptatie aangestipt te worden : de tolerantie

van het Great Salt Lake ras (respektievelijke overlevingscijfers in deze proef van 51 en 63 % bij 35 en 120 ‰) is inderdaad nog steeds significant groter dan deze genoteerd voor de inokulatieprodukten.

Tabel LXXV. Overleving (in %) van diverse Artemia-rassen en monsters afkomstig van hetzelfde parentaal materiaal bij 34°C en bij 2 verschillende saliniteiten

Geografische oorsprong	35 ‰	120 ‰
San Francisco Bay	12 ^{a1}	17 ^a
Mundra	13 ^a	27 ^b
Macau (871172)	18 ^a	30 ^b
Macau (973060)	13 ^a	28 ^b
Barotac Nuevo	33 ^b	26 ^b
Thailand	38 ^b	26 ^b

¹ De waarden aangeduid met eenzelfde letter zijn niet significant verschillend op het 0,05 niveau.

De overleving van de larven van diverse geografische oorsprong is samengevat in Tabel LXXVI en grafisch voorgesteld in Fig. 65. In deze Fig. is de statistische vergelijking tussen de rassen gevisualiseerd.

Het is duidelijk dat tussen de diverse rassen aanzienlijke tolerantieverschillen voorkomen. De parthenogenetische rassen van Salins de Giraud, Izmir en Eilat vertonen een relatief geringe tolerantie in vergelijking tot de rassen van het Amerikaanse kontinent. Opvallend is echter dat het diploïde ras van Salins de Giraud significant minder resistent is dan 2 andere parthenogenetische rassen die een hogere graad van ploïdie vertonen (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982). Dit bevestigt dus de hypothese naar voor gebracht in hoofdstuk 11.1 dat een hogere graad van ploïdie gepaard gaat met een hogere temperatuurtolerantie.

De Amerikaanse rassen vertonen echter ook grote verschillen. Alhoewel ze volgens Bowen et al. (1978) en Abreu-Grobois en Beardmore (1982) wellicht alle behoren tot het Artemia franciscana "sibling species", tonen onze bevindingen aan dat fysiologische verschillen kunnen voorkomen tussen rassen van eenzelfde "sibling species".

Toch wijzen de overlevingscijfers van de twee verschillende monsters van Macau en Great Salt Lake erop dat er geen tijdelijke variatie optreedt

Tabel LXXVI. Overleving (in %) van diverse Artemia-rassen bij 34°C en 2 verschillende saliniteiten

Geografische oorsprong	35 ‰	120 ‰
Salin de Giraud	0	3
Izmir	20	25
Virrila	22	19
Pacoa	22	31
Eilat	34	48
Bahia Salinas	43	46
Bonaire	45	50
Lake Tahoka	50	39
Chilca	52	49
Port Araya	55	56
Great Salt Lake (1979)	53	62
Great Salt Lake (1977)	60 ¹	62 ¹
Galera Zamba	62	57
Bahia de Ceuta	68	46
Manaure	69	62

¹ Gemiddelde waarde van 3 experimenten in de tijd. De standaarddeviatie bedraagt respectievelijk 3,6 % bij 35 ‰ en 5,5 % bij 120 ‰.

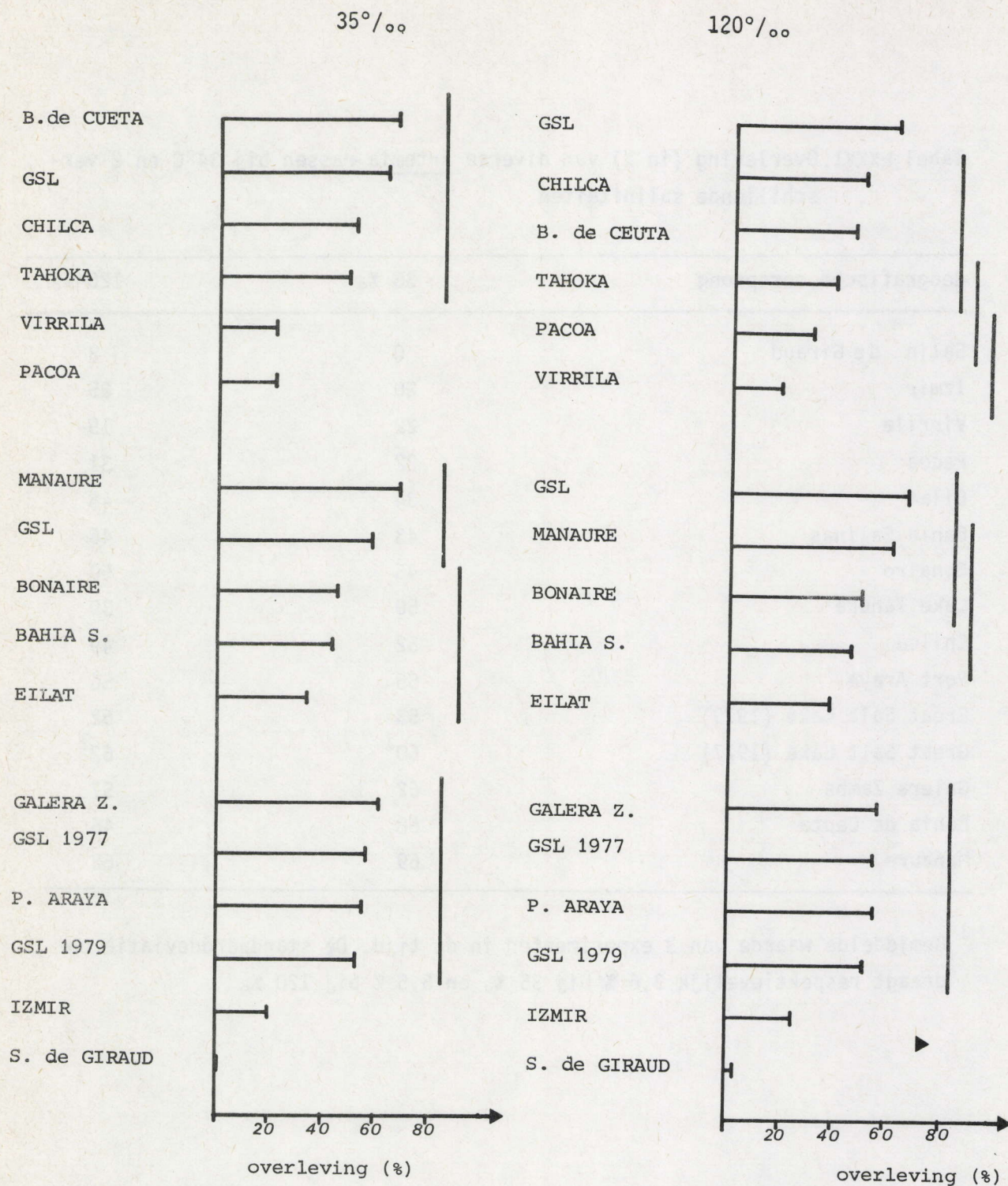


Fig. 65. De overleving van diverse Artemia-rassen bij 34°C en bij 2 saliniteiten
(de gegevens verbonden door een gemeenschappelijke lijn zijn niet
signifikant verschillend op het 0,05 niveau)

binnen eenzelfde ras en dat de tolerantie voor hoge temperaturen in feite rasspecifiek is. Hoewel reeds gebleken is dat er een zekere adaptatie aan hogere temperaturen mogelijk is, zijn de kwantitatieve verschillen in tolerantie van die aard dat ze zeker niet volledig aan adaptatie kunnen toegeschreven worden. Bovendien is het zo dat er geen duidelijke correlatie bestaat tussen de breedteligging der biotopen en de temperatuurtolerantie. Evenmin kunnen de overlevingscijfers gekorreleerd worden met de gemiddelde jaartemperatuur of de temperatuur der warmste maand.

Uit het geheel van deze vaststellingen kunnen we afleiden dat de temperatuurtolerantie bij de diverse Artemia-rassen bepaald wordt door een interactie van genetische karakteristieken en adaptatieverschijnselen. De min of meer willekeurige geografische distributie van rassen van het Amerikaanse kontinent met een verschillende tolerantie is hierbij wellicht te wijten aan de verspreiding der Artemia-rassen door vogels of door de mens (zie Clark en Bowen, 1976). Meldenswaard is in dit verband dat de meeste rassen die een relatief hoge tolerantie bezitten (Port Araya, Bonaire en Manaure) genetisch minder ver gedifferentieerd zijn van het Great Salt Lake-ras dan van het San Francisco Bay-ras (Abreu-Grobois en Beardmore, 1982).

In ieder geval blijkt uit de overlevingscijfers dat naast het ras van Great Salt Lake, diverse andere Amerikaanse rassen een goede temperatuurtolerantie bezitten en aldus in aanmerking komen voor inokulatieprojecten in tropische gebieden.

Uit Tabel LXXVII valt tenslotte nog af te leiden dat de temperatuurtolerantie niet kan verbeterd worden door de cysten te laten ontluiken bij een hogere temperatuur. Het heeft dus voor de praktijk zeker geen zin een hogere inkubatietemperatuur te gebruiken, temeer daar bij temperaturen hoger dan 30°C de ontlukbaarheid der cysten afneemt (zie Hoofdstuk 8.4.3.)

Tabel LXXVII. Invloed van de inkubatietemperatuur der cysten op de overleving (in %) van Artemia-larven bij 34°C en bij 2 verschillende saliniteiten

Geografische oorsprong	Inkubatietemperatuur	Overleving	
		35‰	120‰
San Francisco Bay	25	10 ^a	15 ^a
	35	14 ^a	15 ^a
Great Salt Lake	25	55 ^b	64 ^b
	35	57 ^b	58 ^b

11.3. De resistentie van Artemia-nauplii aan plotse temperatuur- en saliniteitsveranderingen

Bij een inokulatie- en/of transplantatieproject wordt gebruik gemaakt van cystenmateriaal dat tot ontluiking gebracht wordt in natuurlijk zeewater (35 ‰). De vrijzwemmende nauplii worden daarop, eventueel na transport, in het biotoop gebracht waar de saliniteit kan oplopen tot 120 ‰ (Vos en Tansutapanit, 1979 ; De los Santos et al., 1980). Daarenboven bedraagt de temperatuur in de biotopen van de tropische en subtropische gordel in vele gevallen 30°C of meer.

Het spreekt dan ook vanzelf dat de nauplii die ontloken zijn bij 25°C en 35 ‰ bij de inokulatie aan een grote schok blootstaan. Nu is wel gebleken dat pas ontloken nauplii in staat zijn grote saliniteitsveranderingen door te maken zonder noemenswaardige mortaliteit (Jensen, 1918 ; D'Agostino en Provasoli, 1968 ; Sorgeloos, 1978). Er is echter nog steeds geen cijfermateriaal in dit verband beschikbaar en evenmin is het bekend in hoeverre deze resistentie blijft bestaan wanneer de saliniteitsverandering samenvalt met een temperatuuroptename. Het blijft trouwens ook de vraag, tot op welke leeftijd de nauplii die drastische wijzigingen verdragen en in welke mate de resistentie dezelfde is voor diverse Artemia-rassen.

Het is dan ook vanuit dit oogpunt dat enkele experimenten uitgewerkt werden, waarbij de leefbaarheid der nauplii van verschillende leeftijd en diverse geografische oorsprong onderzocht werd na een drastische wijziging in temperatuur en saliniteit.

De cysten werden steeds geïnkubeerd in zeewater met een saliniteit van 35 ‰ en een temperatuur van 25°C. Op de T90, dit is het ogenblik waarop 90 % der nauplii tot ontluiking gekomen waren, werden de larven afgestoot. Een gedeelte van de nauplii, die op dit ogenblik alle in het instar I-stadium waren, werd getransfereerd in testrecipiënten. De overblijvende nauplii werden gestockeerd in zeewater (35 ‰) in een erlenmeyer voorzien van een zachte luchtdoorborreling bij 25°C. Na respectievelijk 8,5 en 24 uur stockering werd telkens een deelmonster der nauplii overgebracht in de testrecipiënten.

San Francisco Bay		Great Salt Lake	
10%	10%	25%	25%
15%	14%	25%	25%
20%	14%	25%	25%
25%	14%	25%	25%
30%	14%	25%	25%
35%	14%	25%	25%
40%	14%	25%	25%
45%	14%	25%	25%
50%	14%	25%	25%
55%	14%	25%	25%
60%	14%	25%	25%
65%	14%	25%	25%
70%	14%	25%	25%
75%	14%	25%	25%
80%	14%	25%	25%
85%	14%	25%	25%
90%	14%	25%	25%
95%	14%	25%	25%
100%	14%	25%	25%

De overlevingsexperimenten werden uitgevoerd in cilindrokonische buizen gevuld met 300 ml water met een saliniteit van 120 ‰ en een temperatuur van 30°C. Een lichte aëratie was voorzien. De proeven werden opgezet in 3 parallellen met 150 nauplii per recipiënt. De nauplii werden gevoed met Dunaliella-cellen en 48 uur na de T90 werd de overleving gecontroleerd. De gemiddelde overlevingsresultaten van de 3 uitgeteste Artemia-rassen zijn samengevat in Tabel LXXVIII. Na een arcsin $\sqrt{V\%}$ -transformatie werden de resultaten statistisch vergeleken aan de hand van een variantie-analyse gevolgd door de toets van Duncan.

Tabel LXXVIII. Overleving van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong en verschillende leeftijd bij een abrupte temperatuur- en saliniteitsverandering

Ras / Tijdstip van de schok	T90	T90 + 8,5 uur	T90 + 24 uur
Great Salt Lake	94 ^{a2}	89 ^a	64 ^b
Shark Bay ¹	93 ^a	88 ^a	88 ^a
Chaplin Lake	71 ^a	55 ^{a,b}	48 ^b

¹ voor dit ras werden 2 parallellen opgezet

² de overlevingscijfers van elk ras aangeduid door dezelfde letter zijn niet significant verschillend op het 0,05-niveau.

Uit Tabel LXXVIII blijkt dat pas ontloken nauplii goed een drastische wijziging in saliniteit en temperatuur kunnen verdragen. De resistentie ten opzichte van grote saliniteitsveranderingen kan gezien worden als een ekologisch adaptatiemechanisme. De nauplii die tot ontluiking komen in een waterlaag met lage saliniteit, die zich bij regenval gedurende een stratificatieperiode aan het oppervlak van de zoutmeren vormt, kunnen inderdaad plots in veel hogere saliniteiten terechtkomen door eigen beweging of bij vermenging van het water onder invloed van de wind (Post, 1977b). Het is echter duidelijk dat niet alle Artemia-rassen dergelijke drastische wijziging even goed verdragen. Zo treedt bij de nauplii van Chaplin Lake reeds een zeer forse daling van de overleving op wanneer de pas ontloken nauplii aan een abrupte temperatuur- en saliniteitsverandering blootgesteld worden. Zoals diverse andere kenmerken van dit ras (bvb. het groot verbruik aan energie gedurende de ont-

luiking en vroege ontwikkelingsstadia, de geringe leefbaarheid der niet gevoede nauplii en de hoge mortaliteit bij kweekproeven ; zie Hoofdstukken 7.4., 9.1. en 11.1.) kan dit fenomeen wellicht toegeschreven worden aan het feit dat Chaplin Lake cysten afkomstig zijn van een sulfaatmeer (Hammer, 1978).

De resistentie van de nauplii blijkt af te nemen naarmate zij ouder worden. De omvang van deze afname is echter verschillend van ras tot ras. Bij de 3 bestudeerde rassen is er een geringe doch niet significante afname na een stockeringsperiode van 8,5 uur, ogenblik waarop een gedeelte der nauplii verveld zijn tot het instar II-stadium. De homogene instar II-III populaties van Great Salt Lake en Chaplin Lake (bekomen na 24 uur bewaring) leveren een significant lagere overleving op. Dit is echter niet het geval voor de instar II-III nauplii van Shark Bay. De goede resistentie van de nauplii van dit ras kan wellicht in verband gebracht worden met de grote overlevingskracht van de niet gevoede nauplii van Shark Bay, die duidelijk hoger is dan deze der overige bestudeerde Artemia-rassen (zie hoofdstuk 9.1.).

Besluitend kan alvast gesteld worden dat, ten einde een inokulatie succesvol te laten verlopen, het aan te raden is de nauplii zo vlug mogelijk na de ontluiking te transfereren in het biotoop. Tevens is ook hier reeds de raskeuze van belang.

De faciliteiten om de cysten tot ontluiking te brengen bevinden zich niet altijd in de onmiddellijke omgeving van de inokulatieplaats. Dit impliceert dat de nauplii na de ontluiking dienen getransporteerd te worden (Vos en Tansutapanit, 1979 ; De los Santos et al., 1980). Om de metabolische aktiviteit en ook het zuurstofgebruik tot een minimum te herleiden worden de nauplii daartoe in gekoeld water (0-4°C) gebracht (Sorgeloos, 1978 ; Vos en Tansutapanit, 1979 ; De los Santos et al., 1980). Dit houdt in dat de larven nog een additionele temperatuurschok te verwerken krijgen. Vanuit dit oogpunt hebben wij de nauplii van de 3 hierboven vermelde rassen, geoogst op de T90, onmiddellijk getransfereerd in een erlenmeyer gevuld met gekoeld (3-4°C) zeewater (35 ‰). Na een stockeringsperiode van 5,5 uur onder deze kondities werden de nauplii overgebracht in cilindrokonische recipiënten in water met een saliniteit van 120 ‰ en een temperatuur van 30°C. Na 48 uur inkubatie onder de hierboven vermelde kondities werd de overleving nagegaan.

De gemiddelde overleving bedroeg 90 % (s = 4,2) voor de Great Salt Lake-nauplii, 86 % (s = 5,4) voor de Shark Bay-nauplii en 37 % (s = 3,5) voor de larven van Chaplin Lake. Aan de hand van t-testen konden we opmaken dat de additionele stress teweeggebracht door de afkoeling geen

signifikante daling van de overleving tot gevolg had voor de eerstgenoemde twee rassen. De nauplii van Chaplin Lake konden deze bijkomende stress blijkbaar minder goed verdragen.

HOOFDSTUK 12. PRODUKTIEKARAKTERISTIEKEN VAN DIVERSE ARTEMIA-RASSEN IN FUNKTIE VAN DE KweekTEMPERATUUR

In Hoofdstuk 11 is duidelijk tot uiting gekomen dat de overleving van het pekelkreeftje afhankelijk is van de temperatuur en dat Artemia een welbepaald temperatuurgebied prefereert. Nu blijkt uit de literatuur dat naast de overleving ook tal van levensprocessen van Artemia beïnvloed worden door de temperatuur : de ontluikbaarheid der cysten en de snelheid van ontluiking (Von Hentig, 1971 ; Sorgeloos, 1975 ; zie ook Hoofdstuk 8.4.3.), de vervelling en ontwikkeling der nauplii (Hentschel, 1968 ; Sorgeloos et al., 1978a), de respiratiesnelheid (Engel en Angelovic, 1968), de reproductiecapaciteit (Iwasaki, 1976 ; Von Hentig 1971), en de groei (Reeve, 1963c ; Von Hentig, 1971). Voor wat dit laatste aspect betreft blijken de groeisnelheid en -efficiëntie van Great Salt Lake-larven maximaal te zijn bij 30°C (Reeve, 1963c ; Von Hentig, 1971). Vermits reeds gebleken is dat verschillen voorkomen tussen de Artemia-rassen met betrekking tot hun temperatuurtolerantie (zie Hoofdstuk 11.1) is het niet onwaarschijnlijk dat het temperatuuroptimum of optimaal temperatuurinterval voor de groei en biomassa-productie verschilt van ras tot ras. Naast het fundamenteel wetenschappelijk belang van de kennis van de temperatuurpreferenda voor de groei en produktie van diverse Artemia-rassen, kan een vergelijkende studie eveneens belangrijke richtlijnen opleveren bij de raskeuze voor biomassaproductie onder diverse temperatuurregimes.

De groeiproeven werden uitgevoerd in cylindrokonische buizen onder dezelfde omstandigheden als bij de studie van de temperatuur- en saliniteitspreferenda. Per buis werden echter 150 nauplii in 300 ml zeewater gebracht. De volgende temperaturen werden uitgetest in 4 parallellen : 20°, 22,5° , 25°, 27,5° 30°C. De rassen die reeds blijken gaven van een goede temperatuurtolerantie werden eveneens bij 32,5°C onderzocht. Op het einde van elke proef, na 9 dagen, werden de volgende parameters bepaald of berekend :

- overlevingspercentage (S)
- totale biomassa in µg drooggewicht (Gt)
- totale biomassaproductie in µg drooggewicht : $Gt - G_0$
- individuele biomassaproductie in µg drooggewicht : $\frac{Gt - G_0}{S}$

1,5 S

- voedselkonversie : $\frac{V}{G_t - G_0}$
- specifieke groeisnelheid op populatieniveau : $k = \frac{\ln \frac{G_t}{G_0}}{T}$
- waarbij G_0 : biomassa (μg drooggewicht) van 150 instar I-nauplii van het beschouwde ras

V : drooggewicht (μg) voedsel verstrekt gedurende de proefperiode

T : proefduur in dagen

Voor iedere proef werd het San Francisco Bay-ras (monster nr. 288-2596) gebruikt als inwendige standaard (bij 25°C) als vergelijkingsbasis voor de kwantitatieve produktiegegevens van elk ras. Steeds werd ook de overleving van de larven van dit referentieras nagegaan bij 30°C om eventuele temporele nefaste veranderingen in de proefomstandigheden te detekteren ; de San Francisco Bay-larven bleken bij 30°C immers zeer gevoelig te zijn aan veranderingen in kwaliteit van het water of voedsel. Indien de mortaliteit van de referentie meer dan 50 % bedroeg werd de proef opnieuw uitgevoerd. De resultaten werden statistisch verwerkt aan de hand van een variantie-analyse (Model I) gevolgd door de toets van Duncan ter vergelijking der gemiddelden.

Vooraleer een aanvang kon gemaakt worden met de studie van de invloed van de temperatuur op de produktiekenmerken van diverse Artemia-rassen dienden echter 2 facetten onderzocht te worden. Vooreerst diende aandacht besteed aan de bepaling van het drooggewicht van het aangewende voedsel, namelijk het groenwier Dunaliella. Het drooggewicht van de toegediende hoeveelheid voedsel moet immers gekend zijn om de voedselkonversie te kunnen vastleggen. In de tweede plaats werden de voedselbehoeften van Artemia onderzocht bij verschillende temperaturen . Hernandorena (1974, 1976) heeft immers aangetoond dat deze kunnen variëren onder invloed van de temperatuur. Hierbij werd niet zozeer gestreefd naar het verwerven van de hoogst mogelijke biomassa maar naar het voor elke temperatuur uitkiezen van een voedselregime dat onder de geldende proefomstandigheden het temperatuureffekt niet maskeert.

Bepaling van het drooggewicht van het groenwier Dunaliella

In de literatuur kon geen enkele betrouwbare waarde voor het drooggewicht van Dunaliella-cellen teruggevonden worden. Het feit dat de klassieke

methoden voor droge-stof bepaling niet bruikbaar zijn voor dit marien groenwier is daar wellicht niet vreemd aan. De cellen van Dunaliella gaan immers bij spoeling in gedestilleerd water door plasmolyse openbarsten (De Pauw et al., 1979). Om die reden hebben we gepoogd een betrouwbare methode op punt te stellen.

1000 ml van een wierkultuur in de exponentiële groeifase worden afgeogst. De celconcentratie (C_1) wordt bepaald door middel van een Coulter Counter type Dn. Daarop worden de wieren gedurende 30 min gecentrifugeerd aan 6500 toeren per min. Het supernatans wordt kwantitatief overgebracht in een maatcilinder. De wierpasta wordt op een getarreed asvrij filttertje gebracht en gedroogd bij 90°C gedurende 24 h (De Leenheer, 1979). Overblijvende wieren worden in de centrifugeerhulzen in suspensie gebracht en bij het supernatans gespoeld. Dit geheel wordt aangelengd tot een gekend volume (V_2) waarop de celconcentratie (C_2) bepaald wordt. Na weging is het drooggewicht van de wierpasta bekend. Dit droog materiaal bevat echter zowel extracellulair zout als wiercellen. Om die reden wordt het filttertje verast bij 550°C gedurende 4h. Het verschil tussen het drooggewicht en het asgewicht, dat het zout en de minerale bestanddelen der wieren bevat, levert dan het gewicht aan organisch materiaal der wiercellen (G_o) op. Het organisch gewicht per miljoen wiercellen wordt dan gegeven door de formule :

$$\frac{G_o}{C_1 \cdot 1000 - C_2 \cdot V_2} \cdot 10^6$$

Vermits het asgehalte van Dunaliella ongeveer 5 % bedraagt (Hagmeier, 1961) kan men het drooggewicht van 10^6 cellen bekomen door het organisch gewicht te delen door 0,95.

De gemiddelde waarde van 8 herhalingen in de tijd, uitgevoerd volgens de hierboven beschreven procedure bedroeg 86,35 μg ($s = 8,68 \mu\text{g}$) per miljoen cellen. Dit gemiddelde werd dan ook gebruikt voor de verdere konversieberekeningen.

Het hier bekomen drooggewicht is duidelijk lager dan de waarde van 170 $\mu\text{g}/10^6$ voor Dunaliella tertiolecta-cellen gerapporteerd door Mason (1963).

Uit de methode van deze auteur valt echter af te leiden dat geen rekening gehouden werd met het extracellulair zout dat op de filter achterblijft wat meteen het hoge cijfer verklaart. Volgens berekeningen uitgevoerd op basis van volumemetingen der cellen zou het drooggewicht van 10^6 Dunaliella-cellen begrepen zijn tussen 60 en 90 μg (De Leenheer, pers. meded.), wat dus overeenstemt met onze resultaten.

Bepaling van de geschikte voedselregimes bij diverse temperaturen

Ten einde de evolutie van de voedselbehoefte in functie van de temperatuur vast te leggen werden aanvankelijk 3 temperaturen in aanmerking genomen : 20°, 25° en 30°C. 2 rassen werden bij deze experimenten betrokken dit om te kunnen nagaan of de voedselbehoefte met betrekking tot de groei varieert van het ene Artemia-ras tot het andere. Op basis van hun ruime genetische differentiatie werd geopteerd voor de rassen van San Francisco Bay (bisexueel) en van Margherita di Savoia (parthenogenetisch).

Bij elke temperatuur werd een ganse reeks voedselregimes uitgetest. De best geschikte regimes zijn samengevat in Tabel LXXIX. Voor de beschrijving van de resultaten van deze proeven, verwijzen wij naar het werk van Bossier (1981). Op uitzondering van het feit dat in elk recipient 200 nauplii in 400 ml water gebracht werden, was de proefmethodiek analoog aan deze die hierboven beschreven is.

Tabel LXXIX. De best geschikte voedselregimes (10^6 wiercellen) uitgetest door Bossier (1981)

Voedselregime	V	VI	VII	VIII	IX
dag 1	24	30	42	54	66
dag 2, 3 en 4	48	60	84	108	132
dag 5 en 6	72	90	126	162	198
dag 7 en 8	96	120	168	216	264
dag 9	120	150	210	270	330
Totaal	624	780	1092	1404	1716

Uit zijn resultaten kon afgeleid worden dat :

- de kwantitatieve voedselbehoeften niet noemenswaardig verschillen tussen de beide onderzochte rassen;
- bij 20°C het voedselregime V een maximale groeisnelheid gekoppeld aan een minimale konversie oplevert;
- bij 25° en 30°C de voedselbehoeften dezelfde zijn en de optimale voedselkwaliteit gesitueerd is tussen de regimes VI en VIII.

Het was echter niet volledig duidelijk welk regime diende geselecteerd te worden. Zo was voor het ras van San Francisco Bay bij 25°C de konversie van het regime VI lager dan die van regime VII doch niet significant verschillend van deze bekomen bij regime VIII. Voor hetzelfde ras en bij 30°C was er geen significant verschil in konversie tussen de regimes VI en VII, terwijl regime VIII een betere groei opleverde. Vooral op basis van de verhoogde groei werd aanvankelijk geopteerd voor regime VIII (Bossier, 1981).

Deze auteur merkte echter reeds op dat de variaties in de tijd bij dit hoge regime veelal hoog waren en dat dikwijls een hoge mortaliteit optrad. Uit verder experimenteel werk bleek trouwens dat de mortaliteit veelal van dien aard was dat de resultaten onbruikbaar werden. Om die reden werd dan ook een nieuw experiment opgezet bij de voedselregimes VI en VII vooral met de bedoeling na te gaan in hoeverre dat temperatuureffekt tussen 25° en 30°C beïnvloed wordt door de verstrekte voedselhoeveelheid. Hierbij werden echter in elk recipient 150 nauplii gebracht in 300 ml water en werd bijgevolg ook de voedselkwantiteit met 25 % verminderd.

Uit de resultaten (Tabel LXXX) blijkt nu dat zowel bij 25°C als bij 30°C een verhoging van de voedselhoeveelheid gepaard gaat met een stijging van de biomassa-produktie en groeisnelheid doch tevens een toename van de konversie. Belangrijk is echter dat de kwantitatieve verschillen tussen 25° en 30° praktisch konstant blijven onafgezien van het toegepaste voedselregime (specifieke groeisnelheid : 0,014 t.o.v. 0,010 ; konversie 0,49 t.o.v. 0,41). Dit duidt erop dat de waargenomen verschillen volledig te wijten zijn aan het effect van de temperatuur. Op basis van deze vaststellingen hebben we dan ook zowel voor 25°, 27,5° en 30°C evenals voor 32,5°C geopteerd voor een voedselregime gelegen tussen VI en VII. Bij 22,5°C werd een regime gekozen tussen dit van 20°C en dit van 25°C doch dichter aanleunend bij dit laatste.

Tabel LXXX. Invloed van de temperatuur en het voedselregime op de produktiekenmerken van het San Francisco Bay-Artemia

Temperatuur (°C)	25		30	
	VI	VII	VI	VII
Overleving (%)	92	90	70	67
Biomassa-produktie (µg)	13113	16100	11642	14723
Specifieke groeisnelheid	0,445	0,467	0,431	0,457
Konversie	3,85	4,39	4,34	4,80

Gezien de groeikurve van Artemia een exponentieel verloop kent gedurende de eerste 10 dagen (Reeve, 1963c) werd de voedselhoeveelheid op dag 8 en dag 9 iets verhoogd. De uiteindelijke toegepaste voedselregimes bij de diverse temperaturen zijn samengevat in Tabel LXXXI.

Tabel LXXXI. De voedselkwantiteiten verstrekt bij de diverse temperaturen.
(aantal Dunaliella-cellen $\times 10^6$)

Temperatuur	20°C	22,5°C	25-32,5°C
dag 1	18	20,7	22,5
dagen 2,3,4	36	41,4	45
dagen 5,6	54	63	67,5
dag 7	72	82,8	90
dag 8	90	106,2	112,5
dag 9	126	147,6	157,5
Totaal	522	607,5	652,5
Totaal droog- gewicht (μg)	45075	52458	56343

Vergelijkende studie der Artemia-rassen

De produktieresultaten bekomen met de verschillende bestudeerde rassen zijn samengevat in afzonderlijke tabellen. Om deze tabellen niet overmatig te belasten werden enkel de gemiddelde waarden van de bestudeerde parameters opgenomen. Hierbij dient opgemerkt dat kleine discrepanties kunnen voorkomen tussen de opgegeven gemiddelden van konversie en specifieke groeisnelheid en de waarden die bekomen worden bij berekening van deze parameters uitgaande van de gemiddelde biomassa of biomassa-produktie. Deze geringe verschillen vinden hun oorsprong in het feit dat elke gemiddelde waarde hier berekend werd uitgaande van de resultaten van de 4 parallellen voor elke parameter afzonderlijk. De tabellen omvatten eveneens de resultaten van de statistische analyse van de belangrijkste produktiekenmerken. Hierbij werd de biomassa-produktie niet in beschouwing genomen daar de statistische analyse van deze parameter praktisch steeds dezelfde resultaten opleverde als de analyse van de specifieke groeisnelheid. Tenslotte werd de evolutie van de biomassa-produktie en de voederkonversie in funktie van de temperatuur visueel voorgesteld in grafieken.

San Francisco Bay (Tabel LXXXII ; Fig. 66) en Macau (Tabel LXXXIII ; Fig. 67).

Voor beide rassen kan een goede overleving genoteerd worden tussen 20 en 27,5°C. Bij 30°C treedt in beide gevallen echter een significante daling op. Dit wordt echter gedeeltelijk gekompenseerd door een stijging van het individueel gewicht der nauplii. De totale biomassa-produktie, evenals de groeisnelheid en voedselkonversie kennen hun maximum bij 22,5°C.

Bij het San Francisco Bay-ras blijft de groeisnelheid echter eveneens bij 25°C maximaal. De groeisnelheid van de Macau-larven vertoont geen significant verschil in het temperatuurinterval van 22,5° tot 27,5°C, terwijl ook de efficiëntie van voedselgebruik niet significant verschillend is tussen 22,5° en 25°C.

Tabel LXXXII. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van San Francisco Bay in funktie van diverse temperaturen

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	97	97	94	91	66
Biomassa (µg)	11882	15964	15740	14823	13829
Individueel gewicht (µg)	82	110	113	108	140
Biomassaproduktie (µg)	11637	15719	15496	14578	13585
Specifieke groeisnelheid	0,431	0,464	0,463	0,456	0,448
Konversie	3,89	3,35	3,64	3,87	4,15

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 30,5$; $s = 0,005$)

22,5°C	25°C	27,5°C	30°C	20°C
0,464	0,463	0,456	0,448	0,431

Konversie ($F = 12,2$; $s = 0,17$)

22,5°C	25°C	27,5°C	20°C	30°C
3,35	3,64	3,87	3,89	4,15

Tabel LXXXIII. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Macau in funktie van diverse temperaturen

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	97	94	98	96	60
Biomassa (µg)	12259	15780	15733	14879	13804
Individueel gewicht (µg)	84	113	108	104	174
Biomassaproduktie (µg)	11998	15519	15471	14617	13543
Specifieke groeisnelheid	0,428	0,456	0,455	0,450	0,441
Konversie	3,77	3,39	3,65	3,86	4,16

biomassa-
produktie (mg)

konversie

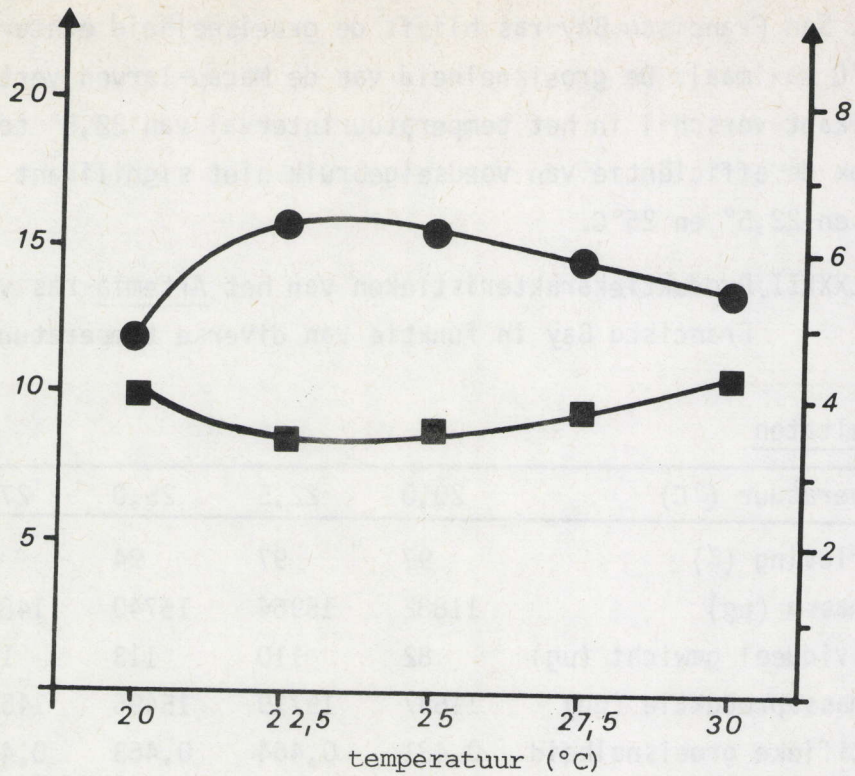


Fig.66. De biomassaproduktie ●● en konversie ■■ van het Artemia-ras van San Francisco Bay in funktie van diverse temperaturen

biomassa-
produktie (mg)

konversie

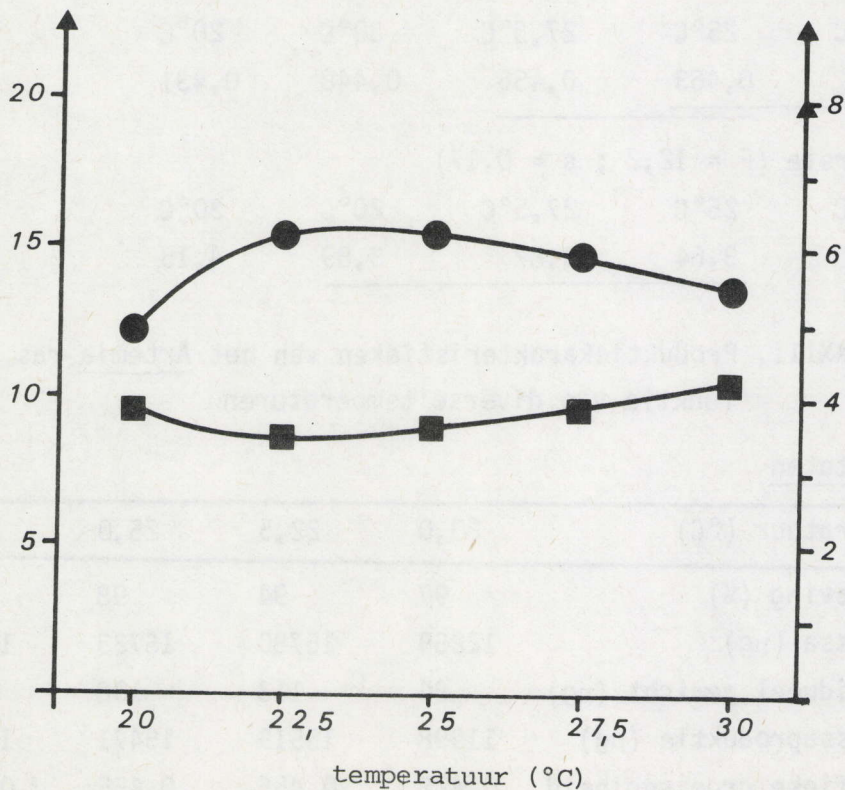


Fig.67. De biomassaproduktie ●● en konversie ■■ van het Artemia-ras van Macau in funktie van diverse temperaturen

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 21,4$; $s = 0,005$)

22,5°C	25°C	27,5°C	30°C	20°C
0,456	0,455	0,450	0,441	0,428

Konversie ($F = 10,6$; $s = 0,17$)

22,5°C	25°C	20°C	27,5°C	30°C
3,39	3,65	3,77	3,86	4,16

Beide rassen kennen dus een duidelijk optimumgebied voor de produktie dat zich situeert bij 22,5°C en zich verder uitstrekt tot 25°C voor San Francisco Bay-Artemia en 27,5°C voor Macau-Artemia. Buiten dit temperatuur-interval is er een duidelijke achteruitgang van de totale biomassa-produktie en voedselkonversie. Over het algemeen is er voor beide Artemia-rassen weinig verschil in de verandering der produktie-karakteristieken onder invloed van de temperatuur. Ook kwantitatief gezien is de geproduceerde hoeveelheid droge stof voor beide rassen praktisch dezelfde. De biomassa-produktie van de San Francisco Bay-Artemia die als inwendige standaard bij 25°C gelijktijdig met het monster van Macau uitgetest werd, bedroeg 15595 μg .

Great Salt Lake (Tabel LXXXIV; Fig. 68).

De mortaliteit van de Great Salt Lake-larven is een weinig hoger dan deze van San Francisco Bay. De biomassa-produktie is echter duidelijk beter. Bij 25°C levert de biomassa geproduceerd door de Great Salt Lake-Artemia inderdaad een meeropbrengst van 21 % op ten opzichte van de inwendige standaard. Dit cijfer benadert zelfs 35 % bij 30°C waarbij het Great Salt Lake-ras de hoogste specifieke groeisnelheid laat noteren. Er komt echter geen significant verschil in groeisnelheid voor tussen 27,5° en 30°C. De voedselkonversie vertoont bovendien geen significante toename tot een temperatuur van 25°C. Bij een temperatuur lager dan 25°C treedt voor dit ras een duidelijke achteruitgang van de biomassa-produktie op. Ook bij 32,5°C is de groei sterk gelimiteerd, hoewel de overleving op hetzelfde peil blijft.

Tabel LXXXIV. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Great Salt Lake in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0	32,5
Overleving (%)	77	85	89	89	87	88
Biomassa (µg)	12347	18492	21639	22764	23911	13975
Ind. gewicht (µg)	108	146	162	171	183	106
Biomassaproductie (µg)	11984	18129	21276	22401	23548	13612
Spec. groeisnelheid	0,392	0,437	0,454	0,460	0,465	0,406
Konversie	3,79	2,90	2,65	2,52	2,40	4,14

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 92,5$; $s = 0,006$)

30°C	27,5°C	25°C	22,5°C	32,5°C	20°C
0,465	<u>0,460</u>	0,454	0,437	0,406	0,392

Konversie ($F = 53,7$; $s = 0,20$)

30°C	27,5°C	25°C	22,5°C	20°C	32,5°C
<u>2,40</u>	2,52	<u>2,65</u>	2,90	3,79	4,14

De betere temperatuurtolerantie van de Great Salt Lake-Artemia wordt verder bevestigd door de goede groei bij hoge temperaturen. Het optimumgebied van 27,5°C tot 30°C stemt goed overeen met de bevindingen van Reeve (1963c) die een toename van de groeiëfficiëntie vaststelde van een minimum bij 5°C tot een maximum bij 30°C.

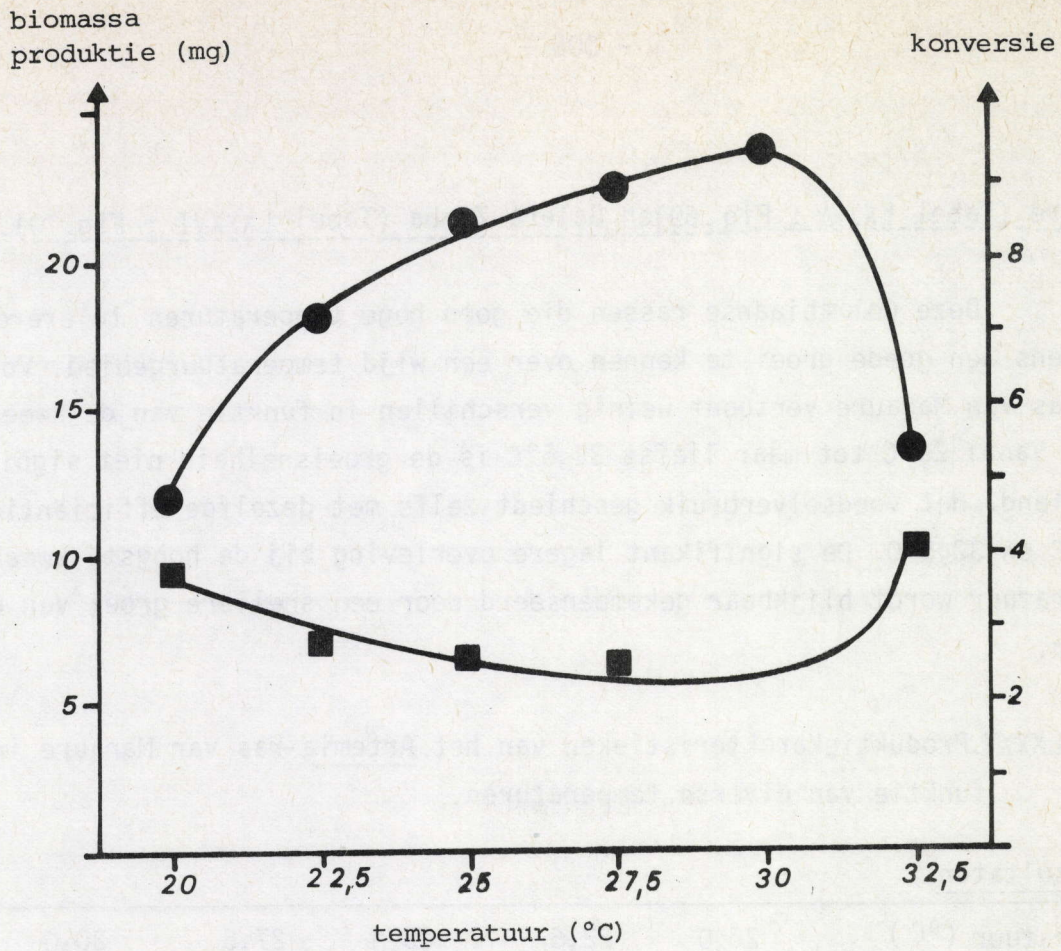


Fig.68. De biomassaproduktie ●● en konversie ■■ van het *Artemia*-ras van Great Salt Lake in funktie van diverse temperaturen

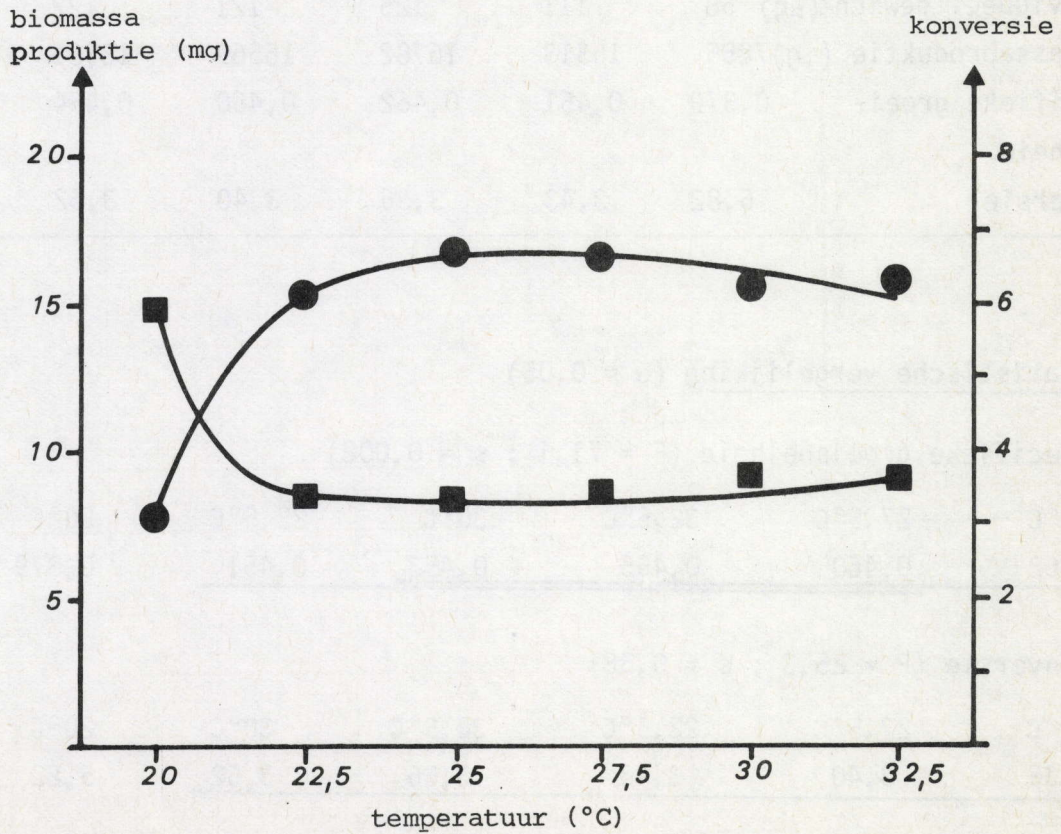


Fig.69. De biomassaproduktie ●● en konversie ■■ van het *Artemia*-ras van Manaure in funktie van diverse temperaturen

Manaure (Tabel LXXXV ; Fig.69) en Galera Zamba (Tabel LXXXVI ; Fig.70).

Deze Colombiaanse rassen die goed hoge temperaturen tolereren, blijken eveneens een goede groei te kennen over een wijd temperatuurgebied. Vooral het ras van Manaure vertoont weinig verschillen in functie van de kweektemperatuur. Vanaf 25°C tot maar liefst 32,5°C is de groeisnelheid niet significant verschillend. Het voedselverbruik geschiedt zelfs met dezelfde efficiëntie tussen 22,5°C en 32,5°C. De significant lagere overleving bij de hoogste kweektemperatuur wordt blijkbaar gecompenseerd door een snellere groei van de larven.

Tabel LXXXV. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Manaure in functie van diverse temperaturen,

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0	32,5
Overleving (%)	94	94	91	93	86	77
Biomassa (µg)	8122	15580	17049	16836	15848	16091
Individueel gewicht(µg)	58	111	125	121	122	140
Biomassaproduktie (µg)	7855	15313	16782	16569	15581	15824
Specifieke groei-snelheid	0,379	0,451	0,462	0,460	0,454	0,455
Konversie	5,82	3,43	3,36	3,40	3,62	3,56

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 71,1$; $s = 0,008$)

25°C	27,5°C	32,5°C	30°C	22,5°C	20°C
0,462	0,460	0,455	0,453	0,451	0,379

Konversie ($F = 25,3$; $s = 0,38$)

25°C	27,5°C	22,5°C	32,5°C	30°C	20°C
3,36	3,40	3,43	3,56	3,62	5,82

Bij de Artemia van Galera Zamba stellen we echter juist het omgekeerde fenomeen vast. De mortaliteit bij 32,5°C is niet significant toegenomen, doch de groeisnelheid is duidelijk gelimiteerd. Verder valt hier evenmin een significant verschil in groeisnelheid of konversie te noteren binnen het interval van 22,5°C tot 30°C. Net zoals voor het ras van Manaure treedt bij 20°C echter een significante daling van de produktie op.

Tabel LXXXVI. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Galera Zamba in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0	32,5
Overleving (%)	94	96	98	96	96	92
Biomassa (µg)	11473	16463	16830	16199	17356	12389
Ind. gewicht (µg)	89	114	114	112	121	90
Biomassaproduktie (µg)	11133	16123	16490	15859	17016	12049
Spec. groeisnelheid	0,390	0,431	0,433	0,427	0,437	0,399
Konversie	4,05	3,26	3,42	3,55	3,31	4,68

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 42,4$; $s = 0,007$)

30°C	25°C	22,5°C	27,5°C	32,5°C	20°C
0,437	0,433	0,431	0,427	0,399	0,390

Konversie ($F = 21,4$; $s = 0,27$)

22,5°C	30°C	25°C	27,5°C	20°C	32,5°C
3,26	3,31	3,42	3,55	4,05	4,68

Kwantitatief gezien is de produktie van deze Zuid-Amerikaanse rassen beter dan deze van het San Francisco Bay-ras (15017 µg bij 25°C), wat overeenstemt met de gegevens verstrekt in hoofdstuk 10.

biomassa
produktie (mg)

konversie

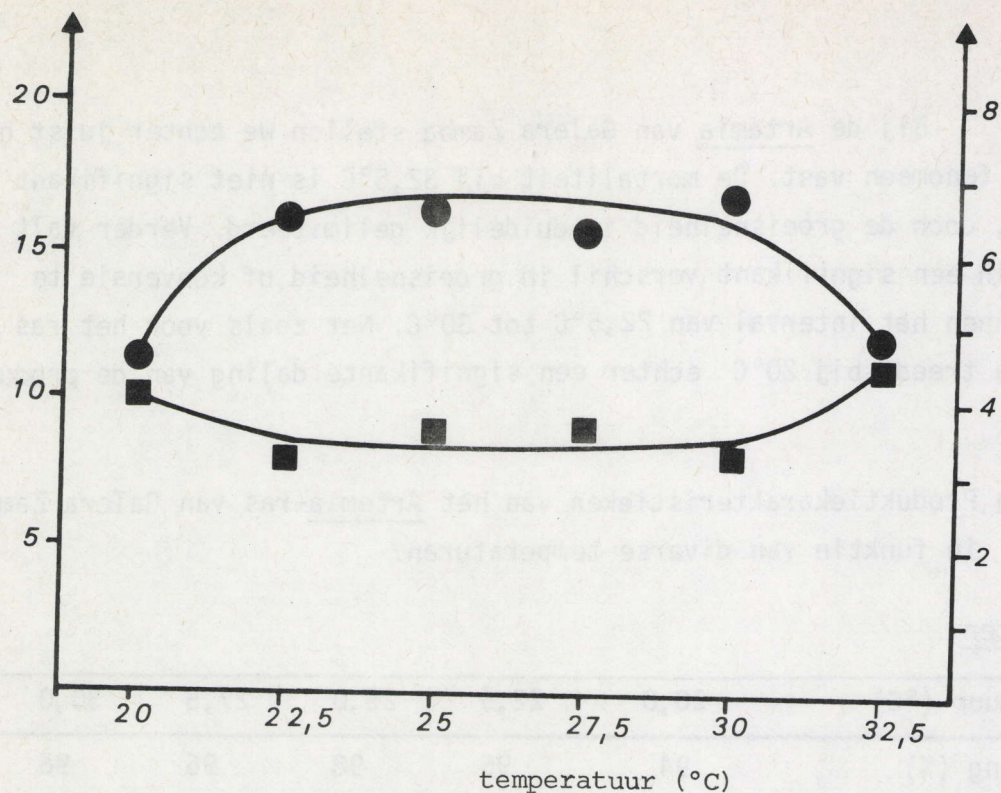


Fig.70. De biomassaproductie ●-● en konversie ■-■ van het Artemia-ras van Galera Zamba in functie van diverse temperaturen

biomassaproductie (mg)

konversie

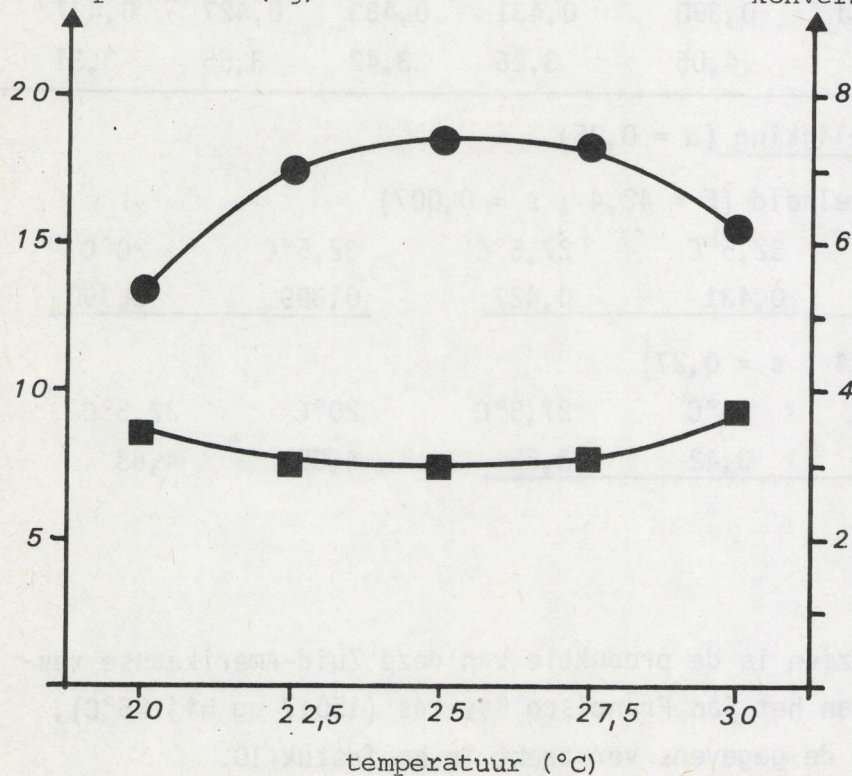


Fig.71. De biomassaproductie ●-● en konversie ■-■ van het Artemia-ras van Chaplin lake in functie van diverse temperaturen

Chaplin Lake (Tabel LXXXVII; Fig. 71)

Zoals reeds uit het vorige hoofdstuk gebleken is, worden in kweektesten met dit sulfaatras hogere mortaliteiten genoteerd dan met andere rassen. Bij 30°C is de mortaliteit verder significant toegenomen. De totale biomassa-productie bereikt echter nog een hoge waarde, namelijk 108 % ten opzichte van het referentieras, wat erop wijst dat, zoals trouwens uit het individueel gewicht blijkt, de larven van Chaplin Lake snel groeien (zie ook hoofdstuk 10).

De globale biomassaproductie is nagenoeg konstant in het interval tussen 22,5° en 27,5°C, doch ook bij 30° en 20°C kan nog een behoorlijke productie genoteerd worden. Bij 20°C is de konversie zelfs niet significant verschillend ten opzichte van de waarden genoteerd bij 22,5°, 25° en 27,5°C. Het Chaplin Lake-ras kent dus een breed preferentie-interval voor de temperatuur dat echter zowel naar boven als naar onder duidelijk begrensd is.

Tabel LXXXVII. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Chaplin Lake in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	72	75	77	65	50
Biomassa (µg)	13724	17826	18944	18557	15820
Ind. gewicht (µg)	129	162	165	191	216
Biomassaproductie (µg)	13418	17520	18638	18251	15514
Spec. groeisnelheid	0,422	0,452	0,459	0,456	0,437
Konversie	3,42	3,00	3,03	3,11	3,72

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 6,01$; $s = 0,013$)

25°C	27,5°C	22,5°C	30°C	20°C
0,459	0,456	0,452	0,437	0,422

Konversie ($F = 4,2$; $s = 0,38$)

22,5°C	25°C	27,5°C	20°C	30°C
3,00	3,03	3,11	3,42	3,72

Buenos Aires (Tabel LXXXVIII, Fig. 72)

Dit ras, behorend tot het Artemia persimilis "sibling species" is gekenmerkt door een vrij hoge biomassaproductie bij alle uitgeteste temperaturen. Bij 25°C bedraagt de produktie 115 % ten opzichte van het San Francisco Bay-ras (17491 mg). Het optimaal temperatuurinterval is nochtans beperkt tot het gebied tussen 22,5° en 25°C. Bij 20°C is de voedselkonversie echter niet significant toegenomen. De kweek van Buenos Aires-Artemia bij hogere temperaturen resulteert in een verminderde produktie en verhoogde konversie die het gevolg zijn, enerzijds van een minder goede groei (vooral bij 27,5°C) en anderzijds van een significante stijging der mortaliteit (vooral bij 30°C)

Tabel LXXXVIII: Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Buenos Aires in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	96	90	94	91	80
Biomassa (µg)	16535	20019	20339	17462	16972
Individueel gewicht (µg)	116	142	144	129	142
Biomassaproductie (µg)	16277	19761	20081	17204	16714
Specifieke groeisnelheid	0,462	0,483	0,485	0,468	0,465
Konversie	2,78	2,66	2,81	3,29	3,38

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 15,7$; $s = 0,005$)

25°C	22,5°C	27,5°C	30°C	20°C
0,485	0,483	0,468	0,465	0,462

Konversie ($F = 17,3$; $s = 0,16$)

22,5°C	20°C	25°C	27,5°C	30°C
2,66	2,78	2,81	3,29	3,38

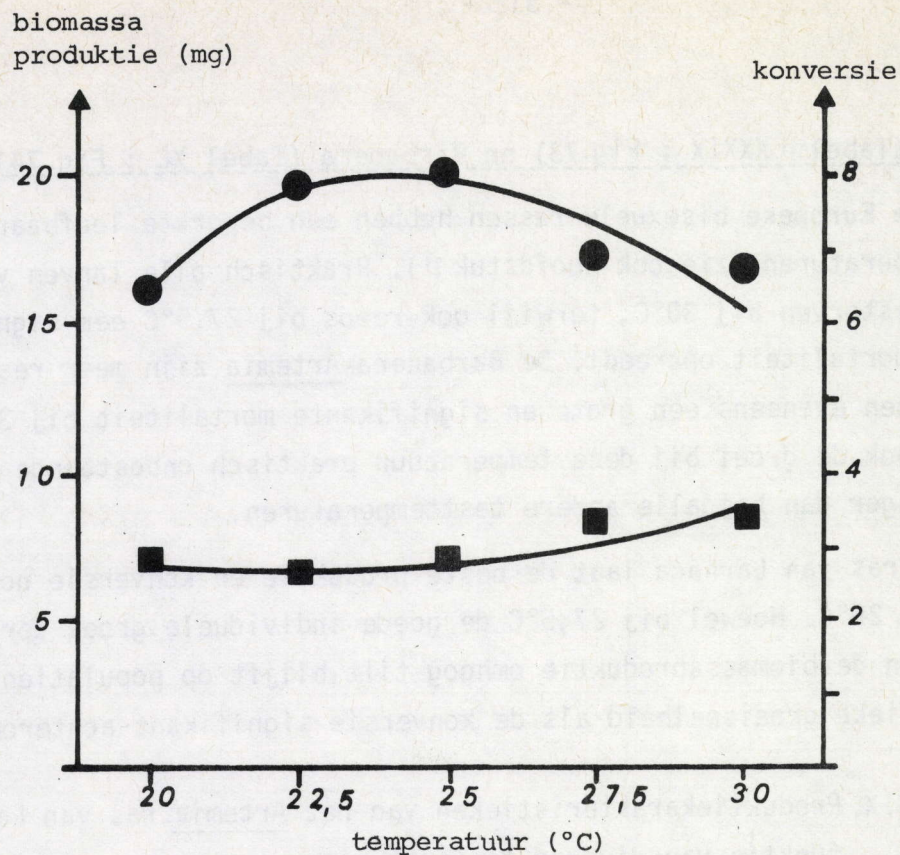


Fig.72. De biomassaproduktie ●-● en konversie ■-■ van het *Artemia*-ras van Buenos Aires in funktie van diverse temperaturen

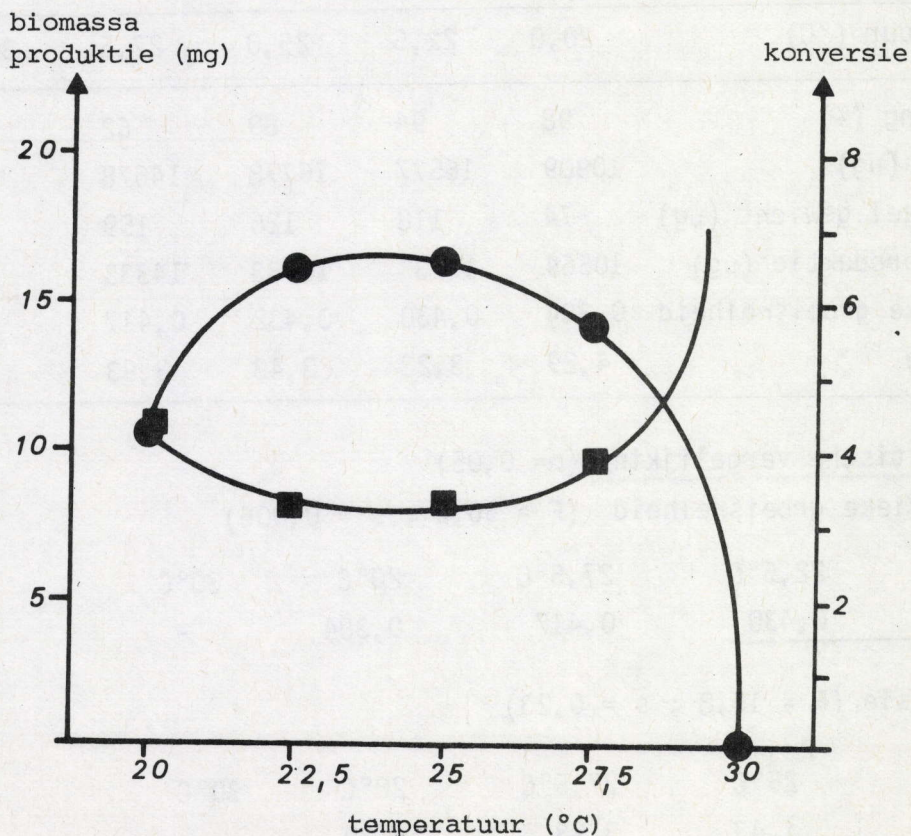


Fig.73. De biomassaproduktie ●-● en konversie ■-■ van het *Artemia*-ras van Larnaca in funktie van diverse temperaturen

Larnaca (Tabel LXXXIX ; Fig.73) en Barbanera (Tabel XC ; Fig.74)

Deze Europese bisexuele rassen hebben een beperkte leefbaarheid bij hoge temperaturen (zie ook Hoofdstuk 11). Praktisch alle larven van Larnaca zijn afgestorven bij 30°C, terwijl ook reeds bij 27,5°C een significant grotere mortaliteit optreedt. De Barbanera-Artemia zijn meer resistent doch kennen eveneens een grote en significante mortaliteit bij 30°C. Bovendien is ook de groei bij deze temperatuur praktisch onbestaande en significant lager dan bij alle andere testtemperaturen.

Het ras van Larnaca laat de beste produktie en konversie noteren bij 22,5°C en 25°C. Hoewel bij 27,5°C de goede individuele groei der overlevende organismen de biomassaproduktie omhoog tilt, blijft op populatieniveau zowel de specifieke groeisnelheid als de konversie significant achterop.

Tabel LXXXIX. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Larnaca in funktie van diverse temperaturen

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	98	94	89	62	3
Biomassa (µg)	10909	16577	16778	14678	-
Individueel gewicht (µg)	74	118	126	159	-
Biomassaproduktie (µg)	10564	16232	16433	14333	-
Specifieke groeisnelheid	0,384	0,430	0,432	0,417	-
Konversie	4,29	3,23	3,43	3,93	-

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 56,3$; $s = 0,006$)

25°C	22,5°C	27,5°C	20°C	30°C
0,432	0,430	0,417	0,384	-

Konversie ($F = 16,8$; $s = 0,23$)

22,5°C	25°C	27,5°C	20°C	30°C
3,23	3,43	3,93	4,29	-

Voor de populatie van Barbanera kan echter geen significant verschil in groeisnelheid genoteerd worden tussen 22,5°C, 25° en 27,5°C. Het dient hierbij opgemerkt dat de groeieresultaten bekomen bij 30°C niet in aanmerking genomen werden voor de statistische verwerking. De relatieve verschillen tussen de parallellen waren zeer groot wat een enorme variantie in konversie en specifieke groeisnelheid tot gevolg had. Bij 20°C kennen beide rassen een sterke daling in groeisnelheid gekoppeld aan een significante stijging van de konversie.

De kwantitatieve produktie is voor beide rassen erg analoog aan deze van het referentieras. In het beste geval produceert het ras van Barbanera iets beter (103 % t.o.v. de referentie) dan het Larnaca-ras (95 % t.o.v. de referentie).

Tabel XC. Produktiekaracteristieken van het ras van Barbanera in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	86	89	94	93	28
Biomassa (µg)	10194	14792	14530	13991	1458
Individueel gewicht (µg)	79	110	103	101	35
Biomassaproduktie (µg)	9858	14456	14194	13655	1122
Spec		0,421	0,419	0,416	0,163
Konversie	4,62	3,66	4,02	4,13	50,22

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 18,1$; $s = 0,009$)

22,5°C	25°C	27,5°C	20°C	30°C
0,421	0,419	0,416	0,379	0,163

Konversie ($F = 4,3$; $s = 0,38$)

22,5°C	25°C	27,5°C	20°C	30°C
3,66	4,02	4,13	4,62	50,22

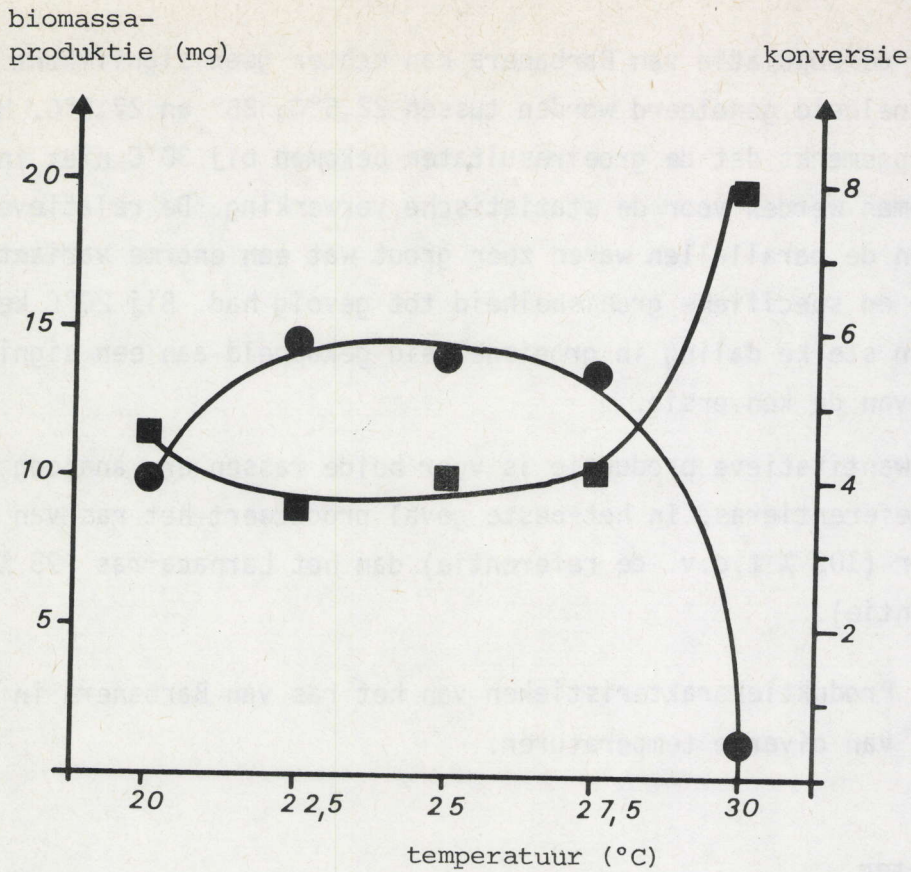


Fig.74. De biomassa-produktie ●—● en konversie ■—■ van het *Artemia*-ras van Barbanera in funktie van diverse temperaturen

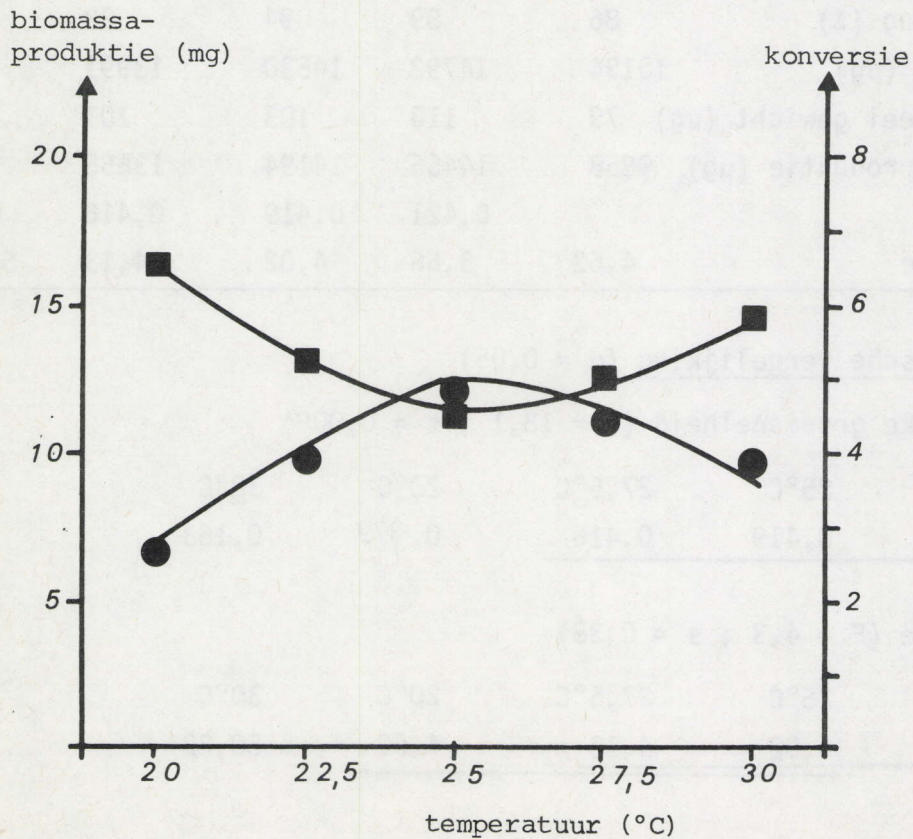


Fig.75. De biomassa-produktie ●—● en konversie ■—■ van het *Artemia*-ras van Shark Bay in funktie van diverse temperaturen

Shark Bay (Tabel XCI ; Fig. 75)

Zoals reeds bij de studie van de temperatuurtolerantie gebleken is, vertoont dit diploïde pathenogenetische ras een aanzienlijke mortaliteit bij 30°C. Dit verklaart dan ook de lage produktiecijfers bij deze temperatuur. Bij temperaturen lager dan 25°C daalt de groeisnelheid der larven echter duidelijk wat resulteert in een significante daling der specifieke groeisnelheid en een significante stijging der voedselkonversie. De optimale kweektemperatuur situeert zich voor dit ras in het interval tussen 25° en 27,5°C. Tussen deze twee temperaturen konden geen significante verschillen vastgelegd worden voor de produktiekenmerken.

Tabel XCI. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Shark Bay in functie van diverse temperaturen

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0
Overleving (%)	97	96	97	92	68
Biomassa (µg)	7392	10303	12762	11466	10080
Individueel gewicht (µg)	51	72	88	83	99
Biomassaproduktie (µg)	7022	9932	12391	11095	9709
Specifieke groeisnelheid	0,332	0,369	0,393	0,381	0,367
Konversie	6,49	5,35	4,57	5,08	5,81

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 17,2$; $s = 0,010$)

25°C	27,5°C	22,5°C	30°C	20°C
0,393	0,381	0,369	0,367	0,332

Konversie ($F = 6,2$; $s = 0,52$)

25°C	27,5°C	22,5°C	30°C	20°C
4,57	5,08	5,35	5,81	6,49

Kwantitatief gezien blijkt het Shark Bay-ras slechts een geringe groeisnelheid te hebben. De biomassaproductie bereikt immers maximaal 84 % van de waarde bekomen voor het ras van San Francisco Bay. Deze vaststelling stemt overeen met de resultaten van de standaard-groeiproef beschreven in hoofdstuk 10 .

Tuticorin (Tabel XCII ; Fig. 76)

Dit triploïde parthenogenetisch ras tolereert duidelijk beter hogere temperaturen dan het ras van Shark Bay. Zelfs bij 32,5°C is de mortaliteit niet significant toegenomen. Naarmate de temperatuur boven de 25°C uitstijgt daalt de groeisnelheid evenals de efficiëntie van het voedselverbruik echter progressief en significant. Temperaturen lager dan 25°C blijken eveneens een afname van de groei tot gevolg te hebben. Bij 22,5°C is de groeisnelheid echter niet verschillend van deze bij 27,5°C en 30°C. In vergelijking tot het San Francisco Bay-ras vertoont het ras van Tuticorin bij 25°C een iets hogere produktie, namelijk 104 %.

Tabel XCII. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Tuticorin in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0	32,5
Overleving (%)	93	92	93	92	96	90
Biomassa (µg)	9380	14529	16819	15272	14388	12672
Individueel gewicht (µg)	67	105	121	112	100	94
Biomassaproductie (µg)	8905	14054	16344	14797	13913	12197
Specifieke groeisnelheid	0,331	0,380	0,396	0,386	0,379	0,365
Konversie	5,06	3,74	3,45	3,81	4,06	4,62

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 84,4$; $s = 0,05$)

25°C	27,5°C	22,5°C	30°C	32,5°C	20°C
0,396	0,386	0,380	0,379	0,365	0,331

Konversie ($F = 40,1$; $s = 0,19$)

25°C	22,5°C	27,5°C	30°C	32,5°C	20°C
3,45	3,74	3,81	4,06	4,62	5,06

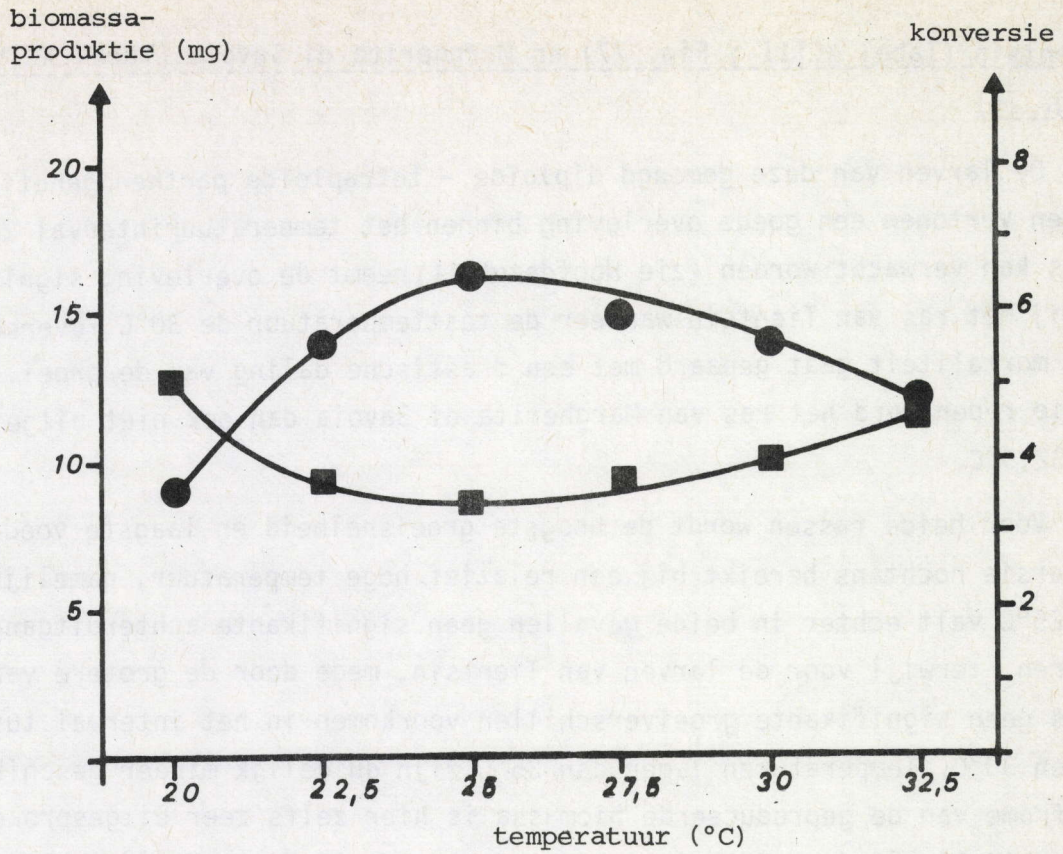


Fig.76. De biomassaproductie●—● en konversie■—■ van het *Artemia*-ras van Tuticorin in functie van diverse teperaturen

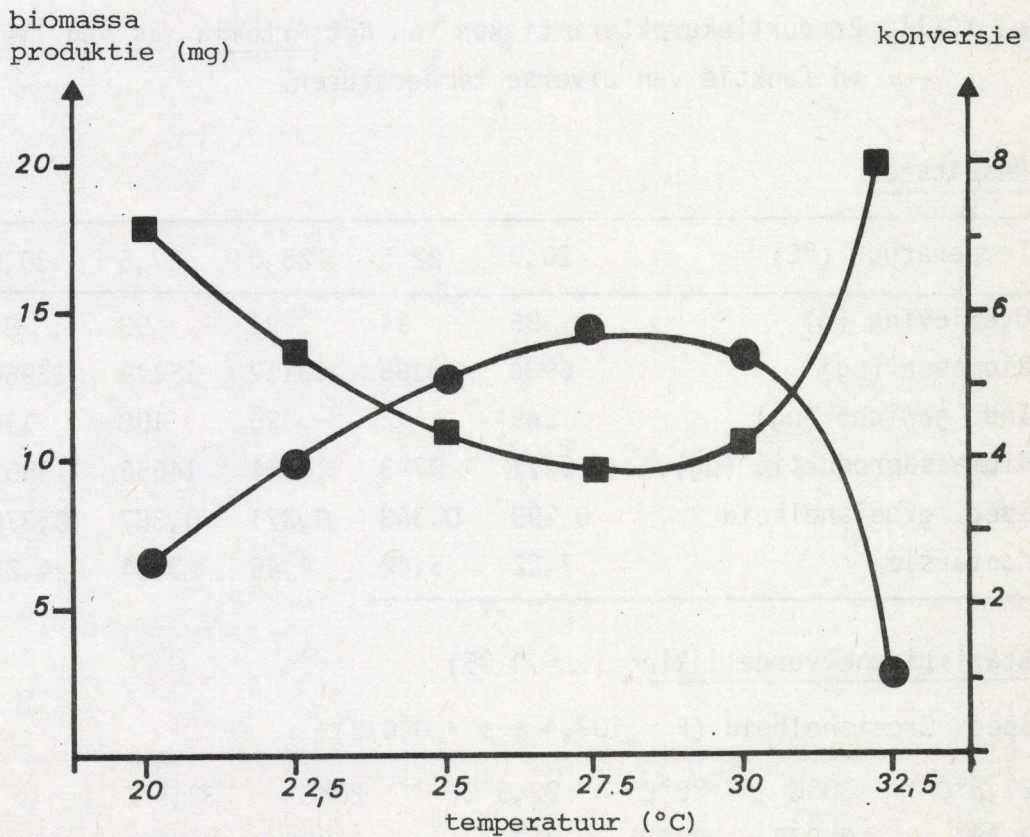


Fig.77. De biomassaproductie●—● en konversie■—■ van het *Artemia*-ras van Tientsin in functie van diverse temperaturen

Tientsin (Tabel XCIII ; Fig. 77) en Margherita di Savoia (Tabel XCIV ; Fig. 78)

De larven van deze gemengd diploïde - tetraploïde parthenogenetische rassen vertonen een goede overleving binnen het temperatuurinterval 20°-30°C. Zoals kon verwacht worden (zie Hoofdstuk 11) neemt de overleving significant af bij het ras van Tientsin wanneer de testtemperatuur de 30°C overschrijdt. Deze mortaliteit gaat gepaard met een drastische daling van de groei. Om die reden werd het ras van Margherita di Savoia dan ook niet uitgetest bij 32,5°C.

Voor beide rassen wordt de hoogste groeisnelheid en laagste voedselkonversie nochtans bereikt bij een relatief hoge temperatuur, namelijk 27,5°C. Bij 25°C valt echter in beide gevallen geen significante achteruitgang te noteren, terwijl voor de larven van Tientsin, mede door de grotere variantie, zelfs geen significante groeiverschillen voorkomen in het interval tussen 25° en 30°C. Temperaturen lager dan 25°C zijn duidelijk minder geschikt. De afname van de geproduceerde biomassa is hier zelfs zeer uitgesproken. Zo is bij 22,5°C de produktie reeds gedaald tot 66 % van de maximale waarde voor Tientsin en 72 % voor Margherita di Savoia.

Tabel XCIII. Produktiekarakteristieken van het Artemia-ras van Tientsin in funktie van diverse temperaturen.

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20,0	22,5	25,0	27,5	30,0	32,5
Overleving (%)	95	94	91	93	84	54
Biomassa (µg)	6934	10166	13117	15119	13964	3025
Ind. gewicht (µg)	49	72	95	108	114	37
Biomassaproduktie (µg)	6471	9703	12654	14656	13501	2562
Spec. groeisnelheid	0,299	0,343	0,371	0,387	0,378	0,208
Konversie	7,22	5,42	4,46	3,84	4,22	22,04

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Spec. Groeisnelheid ($F = 107,4$; $s = 0,012$)

27,5°C	30°C	25°C	22,5°C	20°C	32,5°C
<u>0,387</u>	<u>0,378</u>	<u>0,371</u>	0,343	0,299	0,208

Konversie ($F = 198,7$; $s = 0,89$)

27,5°C	30°C	25°C	22,5°C	20°C	32,5°C
<u>3,84</u>	<u>4,22</u>	<u>4,46</u>	5,42	7,22	22,04

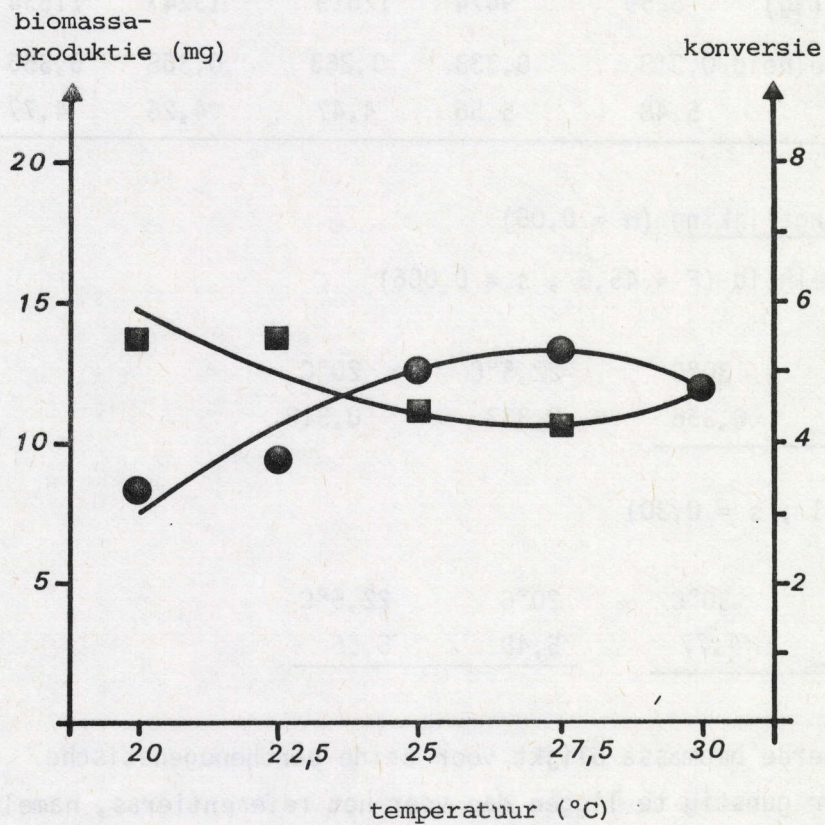


Fig.78. De biomassaproduktie●—● en konversie■—■ van het Artemia-ras van Margherita di Savoia in funktie van diverse temperaturen

Tabel XCIV. Produktiekaracteristieken van het Artemia-ras van Margherita di Savoia in functie van diverse temperaturen

A. Resultaten

Temperatuur (°C)	20 ,0	22,5	25 ,0	27,5	30 ,0
Overleving (%)	96	93	92	95	91
Biomassa (µg)	8759	9974	13119	13747	12334
Individueel gewicht (µg)	61	71	95	97	90
Biomassaproduktie (µg)	8259	9474	12619	13247	11834
Specifieke groeisnelheid	0,318	0,333	0,363	0,368	0,356
Konversie	5,48	5,56	4,47	4,26	4,77

B. Statistische vergelijking ($\alpha = 0,05$)

Specifieke groeisnelheid ($F = 45,6$; $s = 0,006$)

27,5°C	25°C	30°C	22,5°C	20°C
0,368	0,363	0,356	0,333	0,318

Konversie ($F = 15,1$; $s = 0,30$)

27,5°C	25°C	30°C	20°C	22,5°C
4,26	4,47	4,77	5,48	5,56

De geproduceerde biomassa blijkt voor beide parthenogenetische rassen iets minder gunstig te liggen dan voor het referentieras, namelijk maximaal 92 % voor Tientsin en 94 % voor Margherita di Savoia.

Uit het geheel der resultaten blijkt dat de vaststelling van Dutrieu (1960), Teramoto en Kinoshita (1961) en Walne (1967) dat 28°C de optimale kweektemperatuur is voor Artemia niet mag veralgemeend worden. Het meest geschikte interval is voor elk ras afzonderlijk voorgesteld in Fig. 79. Dit interval omvat de temperaturen die de hoogste groeisnelheid gekoppeld aan de laagste konversie lieten noteren en waarbij geen onderlinge significante verschillen konden gedetekteerd worden.

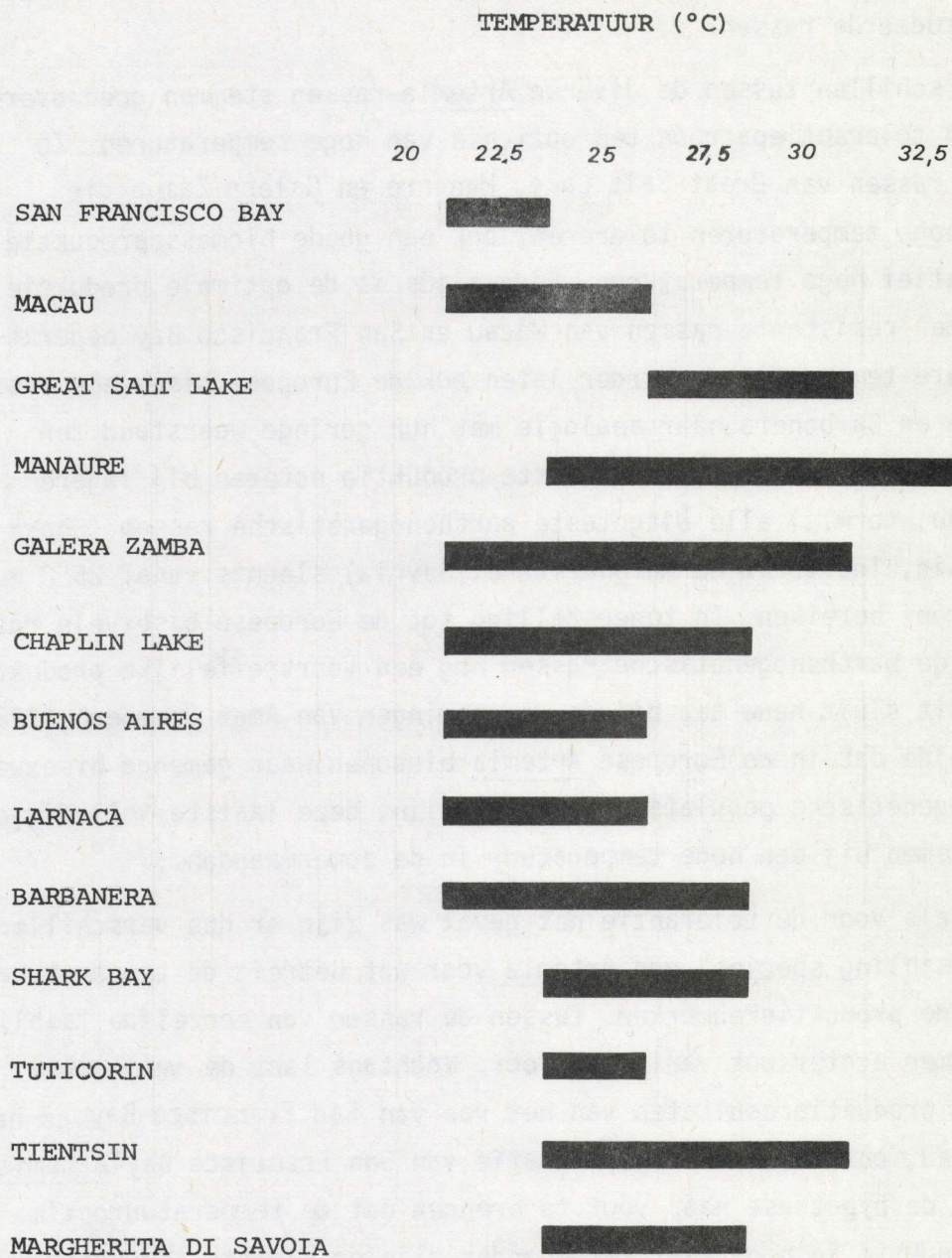


Fig.79. Het optimale temperatuurinterval voor produktiedoeleinden bij diverse Artemia-rassen

Uit de bekomen resultaten blijkt duidelijk dat :

- het optimale temperatuurinterval voor de produktie verschilt van het ene Artemia-ras tot het andere;
- de breedte van dit temperatuurinterval varieert tussen de diverse bestudeerde rassen.

De verschillen tussen de diverse Artemia-rassen stemmen goed overeen met hun tolerantiepatroon ten opzichte van hoge temperaturen. Zo leveren de rassen van Great Salt Lake, Manaure en Galera Zamba die vrij goed hoge temperaturen tolereren, ook een goede biomassa-produktie op bij relatief hoge temperaturen. Anderzijds is de optimale produktie bij de minder resistente rassen van Macau en San Francisco Bay beperkt tot de lagere temperaturen. Verder laten ook de Europese bisexuele rassen van Larnaca en Barbanera, naar analogie met hun geringe weerstand ten opzichte van hoge temperaturen, de beste produktie noteren bij lagere temperaturen, terwijl alle uitgeteste parthenogenetische rassen (Shark Bay, Tientsin, Tuticorin en Margherita di Savoia) slechts vanaf 25°C hun optimale groei bereiken. In tegenstelling tot de Europese bisexuele rassen kennen de parthenogenetische rassen nog een voortreffelijke produktie bij 30°C. Dit sluit nauw aan bij de waarnemingen van Amat Domenech (1982) die vaststelde dat in de Europese Artemia-biotopen waar gemengd bisexuele en parthenogenetische populaties aanwezig zijn, deze laatste volledig de bovenhand nemen bij een hoge temperatuur in de zomermaanden.

Net zoals voor de tolerantie het geval was zijn er dus verschillen tussen de "sibling species" van Artemia voor wat betreft de temperatuurinvloed op de produktiekenmerken. Tussen de rassen van eenzelfde "sibling species" komen echter ook variaties voor. Nochtans laat de vrij grote analogie in produktieresultaten van het ras van San Francisco Bay en het ras van Macau, ontstaan na transplantatie van San Francisco Bay-Artemia aldaar, toe de hypothese naar voor te brengen dat de temperatuuroptima voor de produktie in hoofdzaak rasgebonden zijn en slechts in geringe mate beïnvloed worden door de temperatuur van het biotoop waar de cysten geproduceerd zijn.

Het geheel der resultaten heeft ook een niet te verwaarlozen praktisch belang, meer bepaald voor de intensieve en extensieve massakweek en biomassa-produktie van Artemia. De gegevens vormen inderdaad een leidraad voor

- de keuze van de optimale kweektemperatuur voor elk ras;
- de selektie van specifieke rassen voor produktiedoeleinden onder diverse temperatuurkondities.

Zo is het bijvoorbeeld onnodig en zelfs nadelig bij de kweek van larven van San Francisco Bay, Macau, Buenos Aires, Larnaca en Barbanera het water te verwarmen tot boven 22,5 à 25°C, wat een aanzienlijke besparing kan betekenen op de verwarmingskosten in gematigde streken. Anderzijds wordt bij de rassen van Great Salt Lake, Manaure en Galera Zamba de beste produktie bereikt bij hogere temperaturen zodat deze rassen preferentieel gebruikt worden voor extensieve kweek in tropische gebieden of ter valorisatie van thermische effluënten.

Zoals gebleken is uit de resultaten vermeld in hoofdstuk 10 komen ook verschillen in groeisnelheid voor tussen de Artemia-rassen. Gestuurd op de kwantitatieve produktie-gegevens van elk ras bij de diverse temperaturen kan nu de volgende leidraad opgegeven worden voor de rasselektie voor kweekdoeleinden bij de verschillende temperaturen :

20°C	: Buenos Aires, Chaplin Lake, Macau, San Francisco Bay
22,5°C	: Buenos Aires, Galera Zamba, Great Salt Lake, Chaplin Lake
25°C	: Great Salt Lake, Buenos Aires, Manaure, Galera Zamba en Chaplin Lake
27,5°C	: Great Salt Lake, Manaure, Galera Zamba, Chaplin Lake
30°C	: Great Salt Lake, Galera Zamba, Manaure
32,5°C	: Manaure, Galera Zamba, Great Salt Lake en Tuticorin

Tenslotte dient zeker opgemerkt dat praktisch alle rassen een optimale produktie en voedselkonversie bereiken bij 25°C. Enkel de San Francisco Bay -larven gebruiken bij die temperatuur het voedsel minder efficiënt dan bij 22,5°C hoewel de groei hetzelfde niveau bereikt. Het ras van Great Salt Lake laat een grotere produktie noteren bij hogere temperaturen.

HOOFDSTUK 13. HET GEBRUIK VAN ARTEMIA-NAUPLII ALS VOEDSELBRON IN DE AQUAKULTUUR

13.1. De nutritionele waarde van Artemia-nauplii van diverse geografische rassen : literatuuroverzicht

De nauplii van het pekelkreeftje vormen sinds verschillende decennia de meest geschikte voedselbron voor het opkweken van de larvale stadia van vissen en kreeftachtigen (May, 1971a; Kinne, 1977). Hoewel reeds intensief naar alternatieven gezocht werd, zijn Artemia-nauplii voor de meeste aquakultuurorganismen onvervangbaar gebleken wil men een goede larvale ontwikkeling garanderen (Horvath, 1979 ; Vanderwind, 1979 ; Manzi en Maddox, 1980 ; Sandifer en Williams, 1980).

Tot voor enkele jaren waren enkel cysten afkomstig van San Francisco Bay, Great Salt Lake en Saskatchewan (Little Manitou Lake en/of Chaplin Lake) kommercieel beschikbaar. Hierbij nam het cystenmateriaal van San Francisco Bay lange tijd het ruimste aandeel in. Het is dan ook begrijpelijk dat zowel in de aquakultuur als voor onderzoek vooral dit cystenmateriaal gebruikt werd. Uit de talrijke literatuurreferenties waarin het gebruik van San Francisco Bay-cysten aangegeven werd, is gebleken dat de nauplii van dit ras over het algemeen zeer bevredigende groei- en overlevingsresultaten opleverden.

Het gebruik van Great Salt Lake-nauplii heeft daarentegen in vele gevallen tot nutritionele moeilijkheden geleid :

- Shelbourne (1968, 1975) rapporteerde grote mortaliteiten bij tong- en pladijslarven bij gebruik van Great Salt-Artemia ; dit toxisch effect voor pladijslarven werd eveneens vastgesteld door Slobodkin (1968, in Kinne, 1977) ;
- Little (1969) en Reeve (1969) noteerden hoge mortaliteiten bij de kweek van Palaemon sp. op een Great Salt Lake-dieet ;
- Reed (1969) slaagde er niet in een goede overleving te bekomen voor krablarven bij gebruik van dit Artemia-ras ;
- Forster en Wickins (1967) en Wickins (1970, 1972) noteerden dat Palaemon-larven gevoed met Great Salt Lake-nauplii bij de metamorfose afstierven ;

- Bookhout en Costlow (1970) noteerden een verhoogde mortaliteit en een abnormale ontwikkeling van de magalopa- en eerste krabstadia bij gebruik van een Great Salt Lake-dieet, dit in tegenstelling tot een San Francisco Bay-dieet dat betere resultaten opleverde ; ook Roberts (1971, 1974) stelde dergelijke effecten vast bij de kweek van krablarven ;
- Provenzano en Goy (1976) rapporteerden eveneens een verhoogde mortaliteit bij de larven van Palaemonetes pugio bij gebruik van Great Salt Lake-nauplii ; de duur der larvale ontwikkeling was nochtans dezelfde op een Great Salt Lake-dieet als op een San Francisco Bay-dieet.

De Canadese nauplii werden met goed gevolg gebruikt voor Palaemon (Kurata, 1967) en Penaeus japonicus (Hudiniga en Kittaka, 1967). Provenzano en Goy (1976) bereikten even goede groei- en overlevingsresultaten voor Palaemonetes pugio op Chaplin Lake-nauplii als op San Francisco Bay-nauplii. Volgens Dexter (1972) was dit Canadees Artemia-ras voor Panulirus interruptus zelfs beter geschikt dan enkele andere niet nader gespecificeerde Artemia-rassen.

Naast de 3 gekommercialiseerde Artemia-rassen zijn slechts voor enkele rassen sumiere gegevens bekend in verband met hun nutritionele waarde :

- Fuchs (1976), Fuchs en Person-Le Ruyet (1976) en Person-Le Ruyet en Salaun (1977) konden geen significante verschillen in kweekresultaten detekteren tussen San Francisco Bay-nauplii en een dieet bestaande uit nauplii van de "Salins du Midi" (wellicht Lavalduc) of Larnaca voor larven van de tong, tarbot en zeebaars ;
- volgens Campello (1982) is de metamorfose van Palaemon serratus-larven in ruime mate belemmerd bij gebruik van Lavalduc-nauplii wat niet het geval is op een San Francisco Bay-dieet ;
- Godeluck (1981) vond echter dat Lavalduc-Artemia even goede resultaten opleverden als San Francisco Bay-Artemia voor zeebaarslarven ;
- de nauplii van Izmir bleken eveneens een geschikte voedselbron te zijn voor larven van de zeebaars (Uçal, 1979) ;
- enkele Russische Artemia-rassen (area van Crimea) bleken een zeer geschikte voedselbron te zijn voor de kweek van karperlarven (Bagatoya et al., 1979) en steurlarven (Oleynikova en Pleskachevskaya, 1979 ; Spitchak, 1980) ;

- voor Macrobrachium americanus werden goede produktieresultaten geboekt met Artemia-nauplii afkomstig van Manaure (Cantillo, 1978) ;
- de nauplii van Burgas - Pomorije bleken een goede voedselbron te zijn voor 2 zoetwaterspecies (Lüdskanova en Joskev, 1972) ;
- voor Penaeus kerathurus werden goede resultaten bekomen met Artemia uit San Fernando ;
- Tientsin-nauplii bleken goede kweekresultaten te waarborgen voor Penaeiden; Matsuoka (1975, in Murai en Andrews, 1978) stelde nochtans grote mortaliteiten vast bij Macrobrachium-larven gevoed met nauplii van een niet gespecificeerd Chinees Artemia-ras ;
- Fujita et al., (1980) en Watanabe et al. (1980) vonden dat Chaplin Lake-nauplii beter geschikt waren als voedselbron dan San Francisco Bay-nauplii van een bepaald oogstjaar voor Pragus major-larven ; op basis van het vetzuurpatroon suggereerden zij bovendien dat een Zuid-Amerikaans Artemia-ras (niet gespecificeerd doch wellicht Buenos Aires) evenmin geschikt is als voedselbron voor mariene vissen.

Ofschoon het gebruik van Artemia over het algemeen goede resultaten tot gevolg heeft, blijkt uit dit overzicht dat er naargelang de geografische oorsprong van het cystenmateriaal verschillen in nutritionele waarde kunnen voorkomen.

Voor al voor wat betreft de minder goede resultaten bekomen met Great Salt Lake-nauplii werd reeds onderzoek verricht en werden diverse hypothesen naar voor gebracht :

- Bookhout en Costlow (1970) detekteerden driemaal hogere concentraties aan DDT in Great Salt Lake-dan in San Francisco Bay-cysten en schreven de slechte resultaten bekomen met Great Salt Lake-nauplii daaraan toe ;
- Wickins (1972) daarentegen stelde geen significante verschillen vast tussen deze rassen voor wat hun gehalte aan pesticiden, zware metalen, vetzuren, karotenoiden en sterolen betreft ;
- Helfrich en Shigueno (in Helfrich, 1973) noteerden zowel voor San Francisco Bay-als voor Great Salt Lake-nauplii een hoog gehalte aan DDT ;
- een grondige chemische analyse van gevoede en niet gevoede nauplii van beide rassen toonde geen significante verschillen aan (Claus et al., 1979) die konden leiden tot het ophelderen van de verschillen in nutritionele waarde ;

- Shelbourne(1968) formuleerde de hypothese dat het Artemia-ras van Great Salt Lake misschien immuun geworden was voor een toxisch alkaloid dat bij de wierbloei in dit zoutmeer geproduceerd wordt en in de Artemia-cysten gekoncentreerd wordt ;
- Oppenheimer (in Provasoli, 1969) beschouwde een deficiëntie aan mineralen als een mogelijke oorzaak van de moeilijkheden met de Great Salt Lake-nauplii die voorkomen in een athalassohalien biotoop,

Watanabe et al. (1978b, 1979, 1980) en Fujita et al. (1980) korreleerden de verschillen in nutritionele waarde tussen diverse Artemia-cystenmonsters met hun vetzuurpatroon, meer bepaald het gehalte aan de langketen poly-onverzadigde vetzuren 18:3 ω 3, 20:5 ω 3 en 22:6 ω 3. Op uitzondering misschien van dit verband tussen de voedingswaarde der nauplii voor Pragus major en hun vetzuurpatroon is het thans niet mogelijk aan de hand van de beschikbare literatuur te achterhalen welke chemische, nutritionele, energetische factoren of toxische componenten de nutritionele geschiktheid van een specifiek Artemia-ras bepalen. Vermits de laatste jaren diverse Artemia-rassen van verschillende geografische oorsprong commercieel beschikbaar geworden zijn en in de aquakultuur gebruikt worden, dringt een vergelijkende studie van de nutritionele waarde van de diverse Artemia-rassen zich op. De commerciële beschikbaarheid van meerdere Artemia-rassen heeft immers niet alleen ruimere keuzemogelijkheden tot gevolg, maar brengt ook het selectieprobleem van het best geschikte ras voor iedere specifieke predator met zich mee.

Vanuit dit oogpunt werd in 1978 de "International Study on Artemia" aangevat ter studie van de nutritionele waarde van de belangrijkste Artemia-rassen (Sorgeloos, 1980a). Dergelijke interdisciplinaire aanpak waarbij naast voederproeven gegevens verzameld worden omtrent de biologische, biochemische, biometrische en energetische kenmerken van de nauplii van diverse geografische oorsprong biedt tevens een ruime mogelijkheid een oorzakelijk verband op te sporen tussen de nutritionele geschiktheid en andere karakteristieken van de nauplii.

13.2. Bespreking van de resultaten van het geïntegreerd onderzoeksprogramma "International Study on Artemia"

Voor wat het nutritioneel onderzoek betreft werd beslist in een eerste fase de volgende 5 rassen te bestuderen :

- San Francisco Bay, monster nr. 1628 (SPB)
- Great Salt Lake, monster 1977 (GSL)
- Shark Bay, monster nr. 114 (SB)
- Macau, monster 1978 (MAC)
- Margherita di Savoia, monster 1977 (MS)

De bepalende criteria voor de keuze van deze rassen waren :

- beschikbaarheid van een voldoende hoeveelheid cysten ;
- de mate waarin de rassen reeds gebruikt worden in de aquakultuur (SPB, GSL, SB, MAC) ;
- invloed van milieufactoren (MAC t.o.v. SFB ; de cysten die in de zoutmeren van Macau geoogst worden, zijn in feite oorspronkelijk afkomstig van een San Francisco Bay-populatie die aldaar in april 1977 geïnokuleerd werd ; we hebben hier dus zeker te maken met eenzelfde genotype en kunnen verwachten dat eventuele verschillen tussen deze twee rassen door fenotypische factoren bepaald worden) ;
- geografische isolatie (SB en MAC) ;
- mogelijk genetisch verschil (MS = parthenogenetisch, de overige rassen zijn bisexueel) .

Naderhand zijn wij te weten gekomen dat het monster nr. 1628 in werkelijkheid geoogst werd in San Pablo Bay (zie Hoofdstuk 7.1.2). Om die reden werd dan ook bij sommige experimenten een monster van San Francisco Bay (monster nr. 321, geoogst in 1975) uitgetest.

In een tweede fase werden op basis van dezelfde criteria de volgende rassen bij het onderzoek betrokken :

- Chaplin Lake, monster 1979 (CHA)
- Tientsin, monster 1979 (TIE)
- Lavalduc, monster 1979 (LAV)
- "Reference Artemia cysts"¹ (RAC)

De nutritionele waarde van deze Artemia-cystenmonsters werd nagegaan voor vislarven, Menidia menidia (Beck et al., 1980 ; Beck en Bengtson, 1981),

¹ In functie van de moeilijkheden tot interkalibratie of vergelijking van onderzoeksresultaten met diverse bronnen van Artemia-cysten werd tijdens de "Workshop" omtrent de "Characterization of Artemia Strains for Application in Aquaculture", gehouden ter gelegenheid van het "International Symposium on the Brine Shrimp, Artemia salina L." (Corpus Christi, Texas-USA, 1979) overeengekomen dat het ISA-team een standaard Artemia-cystenmonster zou beschikbaar maken als referentiemateriaal. Deze "Reference Artemia Cysts" waarvan de oorsprong om begrijpelijke commerciële redenen niet werd vrijgegeven, hebben uiteraard het onderwerp uitgemaakt van een grondige karakterisatiestudie (Sorgeloos, 1980b, 1981) .

Pseudopleuronectes americanus (Klein-Mac Phee et al., 1980 ; Klein-Mac Phee et al. 1982), krablarven, Rhithropanopeus harrissii (Johns et al., 1978 ; Johns et al., 1980 ; Seidel et al., 1982), Cancer irroratus (Johns et al., 1980) en de larven van de garnaalachtige Mysidopsis bahia (Johns en Walton, 1979 ; Johns et al., 1981 ; Léger en Sorgeloos, 1983). Usher en Bengtson (1981) evalueerden San Pablo Bay-en Macau-nauplii als dieet voor Cyprinodon variegatus.

De overlevingsresultaten die voor de diverse predatoren bekomen werden, zijn schematisch samengevat in Tabel XCV. Hierbij is de beoordeling van de diverse rassen gebaseerd op de statistische significantie van de overlevingsresultaten bekomen bij de voederproeven. Het is duidelijk dat de overleving der predatoren aanzienlijk varieert in functie van het gebruikte Artemia-ras. Daarenboven blijkt de nutritionele geschiktheid van elk specifiek Artemia-ras niet dezelfde te zijn voor alle predatoren.

De San Pablo Bay-nauplii veroorzaken bij praktisch alle uitgeteste soorten grote tot zeer grote sterftes der larven. Bij Menidia bleef de overleving tijdens één experiment bevredigend. Cyprinodon variegatus kende een goede overleving bij gebruik van San Pablo Bay-nauplii. Het gebruik van Great Salt Lake-nauplii resulteerde in een significant verhoogde mortaliteit bij de krablarven en de larven van Pseudopleuronectes. Opvallend hierbij is dat het gebruik van Great Salt Lake-nauplii enkel negatief uitviel bij de predatoren die een metamorfose doormaakten gedurende hun larvale ontwikkeling. Het Chaplin Lake-dieet viel in vergelijking tot de overige rassen negatief uit voor Mysidopsis en leverde middelmatige overlevingsresultaten op voor Rhithropanopeus en Menidia. De nauplii van Margherita di Savoia en Lavalduc brachten problemen met zich mee voor Menidia-larven. Er dient echter aan toegevoegd dat de moeilijkheden zich enkel voordeden gedurende de eerste 5 dagen van het experiment. Dit was in mindere mate ook het geval voor Tientsin-nauplii. Daarna bleken de nauplii van deze rassen een volwaardig dieet te zijn. Overigens verzekerden deze rassen evenals de monsters van San Francisco Bay, Macau, Shark Bay en het referentiemonster voor alle predatoren een goede overleving.

Voor wat de groei betreft konden eveneens aanzienlijke verschillen genoteerd worden. De beoordeling van de groei is samengevat in Tabel XCVI. Een grote mortaliteit ging over het algemeen gepaard met een geringe groei. Bovendien was het bij zeer grote mortaliteiten niet mogelijk betrouwbare

Tabel XCV. Overleving van verschillende vis- en crustaceeënlarven gevoed met Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong

ARTEMIA-RAS	PREDATOR	<u>Rhithropanopeus</u> <u>harrissii</u>	<u>Cancer</u> <u>irroratus</u>	<u>Mysidop-</u> <u>sis</u> <u>bahia</u>	<u>Menidia</u> <u>medidia</u>	<u>Pseudo-</u> <u>pleuro-</u> <u>nectes</u> <u>amer.</u>
San Francisco Bay		+		+	+	
San Pablo Bay		-	-	-	<u>+</u>	-
Macau		+	+	+	+	+
Great Salt Lake		-	-	+	+	-
Shark Bay		+	+	+	+	+
Margherita di Savoia		+	+	+	<u>+</u>	+
Tientsin		+		+	+	+
Lavalduc		+		+	<u>+</u>	+
Chaplin Lake		<u>+</u>		<u>+</u>	<u>+</u>	+
RAC		+		+	+	+

+ : maximale overleving

+ : overleving significant lager

- : grote mortaliteit

Tabel XCVI. Groei van verschillende vis- en crustaceeënlarven gevoed met Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong

<div> <div>ARTEMIA RAS</div> <div>PREDATOR</div> </div>	<u>Rhithropanopeus</u>	<u>Cancer</u>	<u>Mysidop-</u>	<u>Menidia</u>	<u>Pseudo-</u>
	<u>harrissii</u>	<u>irroratus</u>	<u>sis</u> <u>bahia</u>	<u>menidia</u>	<u>pleuro-</u> <u>nectes</u> <u>amer.</u>
San Francisco Bay	+		+	+	
San Pablo Bay	-	-	<u>+</u>	-	+
Macau	+	+	+	+	+
Great Salt Lake	-	-	+	++	+
Shark Bay	+	+	+	++	++
Margherita di Savoia	+	+	+	++	++
Tientsin	+		+	++	++
Lavalduc	+		+	++	++
Chaplin Lake	<u>+</u>		<u>+</u>	-	<u>+</u>
RAC	+		+	+	++

++: maximale groei

+ : goede groei

+ : significant minder goede groei

- : geringe groei

lengtemetingen of gewichtsbepalingen uit te voeren. Enkel bij Pseudopleuronectes kon een goede groei genoteerd worden op een San Pablo Bay-dieet. Dit was volgens Klein-MacPhee et al. (1982) echter te wijten aan het feit dat de enkele larven die in leven bleven meer voedsel ter beschikking hadden dan het geval was bij gebruik van de andere Artemia-rassen.

Bij gebruik van Chaplin Lake-nauplii was de groeisnelheid steeds beperkt. Een dieet van San Francisco Bay-, Macau-, Shark Bay-, Margherita di Savoia-, Tientsin-, Lavalduc- en RAC-nauplii leverde een goede tot zeer goede ontwikkeling en groei op voor alle predatoren. Voor de kweektesten met vislarven was de gewichts- en/of lengtetoeename significant hoger bij gebruik van de parthenogenetische rassen (SB, LAV, TIE, MS) dan voor de meeste bisexuele rassen.

Ten einde een verklaring te vinden voor de vastgestelde verschillen in nutritionele geschiktheid, werd in het geïntegreerd onderzoeksprogramma gepoogd een relatie te vinden tussen de nutritionele resultaten en de biometrische, biochemische en biologische karakteristieken der betrokken Artemia-rassen.

De biometrische kenmerken der nauplii, die zoals aangegeven in hoofdstuk 7 aanzienlijk verschillen van ras tot ras, vormen een eerste voor de hand liggende verklaring voor enkele van de waargenomen fenomenen. Bij gebruik van de rassen van Margherita di Savoia, Tientsin, Lavalduc en Shark Bay werd voor Menidia een duidelijke mortaliteit vastgesteld gedurende de eerste 5 dagen. Deze verliep praktisch parallel met de mortaliteit van de niet gevoede controle-organismen. De vroegste larvale stadia van deze vissoort kunnen blijkbaar de grote nauplii niet opnemen. Beck en Bengtson (1981) konden een duidelijke korrelatie vastleggen tussen de mortaliteit tijdens de vroege larvale stadia en de afmetingen der nauplii (Fig. 80). Vanaf het ogenblik dat de grootte der nauplii geen belemmering vormde voor de opname werd praktisch geen supplementaire mortaliteit waargenomen. Indien de grootte der prooi niet interfereert met het opnamemechanisme kunnen we verwachten dat de predatoren minder energie zullen verspillen daar voor eenzelfde hoeveelheid energie minder nauplii dienen opgenomen te worden. Dit kan de betere groei van de vislarven, Pseudopleuronectes en Menidia, verklaren op een dieet van grote nauplii afkomstig van parthenogenetische rassen. Deze groeiverschillen kwamen echter niet tot uiting bij de krablarven of de larven van de garnaalachtige. Dit is te wijten aan het verschil

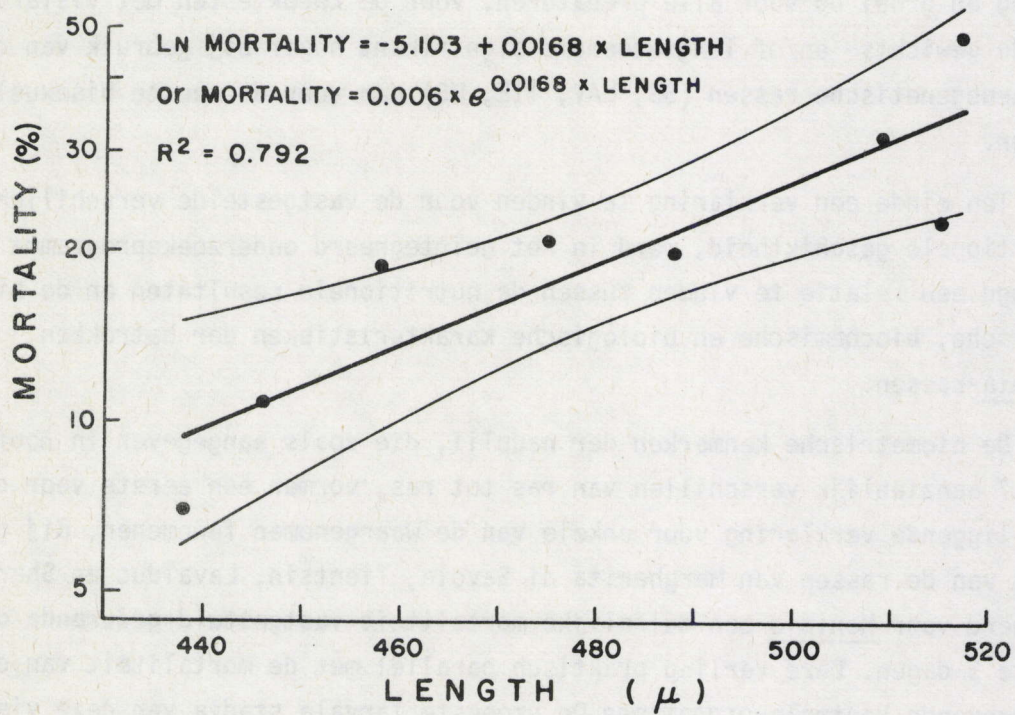


Fig.80. De korrelatie tussen de overlevingsresultaten van Menidia menidia en de lengte der Artemia-nauplii (naar Beck en Bengtson, 1981)

in opnamemechanisme tussen crustaceënlarven en vislarven. Terwijl laatstgenoemde de prooi in zijn geheel opnemen hebben we immers kunnen vaststellen dat de crustaceënlarven de prooi aan stukken trekken (de opname van 1 nauplius kan tot 30 sec in beslag nemen).

Het aminozuurpatroon van de eerste reeks uitgeteste rassen werd bestudeerd door Seidel et al. (1980). Ook Gallagher en Brown (1975), Watanabe et al. (1978a) en Claus et al. (1979) hebben het aminozuurpatroon van Artemia-nauplii bestudeerd. In Tabel XCVII zijn de analyseresultaten van de diverse auteurs samengevat.

Uit deze gegevens blijkt dat het aminozuurpatroon van Artemia-nauplii slechts in geringe mate te verschilt tussen de diverse rassen. De variaties tussen de rassen zijn geringer dan de verschillen tussen de resultaten van de verschillende auteurs. Deze laatste verschillen zijn wellicht te wijten aan de leeftijd der onderzochte nauplii en de toegepaste analysetechniek. Claus et al. (1979) suggereerden een deficiëntie aan methionine. Gallagher en Brown (1975) evenals Seidel et al. (1980) konden echter een substantiële kwantiteit van dit aminozuur detekteren. Volgens Gallagher en Brown (1975) valt de aminozuursamenstelling van Artemia-nauplii voordelig uit in vergelijking tot caseïne en albumine van eieren. Watanabe et al. (1978a) konkludeerden dat Artemia-nauplii een zeer goede proteïnebron zijn met een zeer hoge verteerbaarheid voor larven van de karper en de forel. Seidel et al. (1980) stelden dat de aminozuurbehoeften van de zalm door de nauplii van de 5 bestudeerde rassen voldaan worden. Bovendien is het aminozuurpatroon van Artemia gelijkaardig aan dit van diverse commercieel gekweekte crustaceëen (Gallagher en Brown, 1975 ; Simpson et al., 1983). Op basis van deze vaststellingen menen we te mogen besluiten dat de kwantitatieve en kwalitatieve aminozuursamenstelling niet de oorzaak vormt van de minder goede nutritionele waarde van sommige Artemia-rassen.

Het vetgehalte en vetzuurpatroon van de diverse Artemia-rassen werd in het kader van het ISA-onderzoek bestudeerd door Schauer et al. (1980) en Seidel et al. (1982). Uit de bekomen resultaten, gekompileerd in Tabel XCVIII, blijkt dat het vetgehalte aanzienlijk verschilt tussen de diverse rassen en varieert van 14,3 % voor Chaplin Lake tot 22,4 % voor Great Salt Lake-nauplii. Er kan nochtans geen verband gelegd worden tussen het vetgehalte der nauplii en hun nutritionele waarde.

Kwantitatief gezien vormen 16:0, 16:1 ω 7, 18:1 ω 9 en 18:3 ω 3 of 20:5 ω 3 de belangrijkste vetzuren. Voor wat de kweek van larvale vissen en crustaceëen betreft zijn deze laatste 2 poly-onverzadigde vetzuren zeer belangrijk

Tabel XCVII. Aminozuursamenstelling van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong (g/100g ruw eiwit)

Aminozuur / Ras	Shark Bay ¹	Macau ¹	San Pablo Bay ¹	Margherita ¹ di Savoia	Great Salt Lake ¹ a	2 b	San Francisco Bay ² a	3 b	4 c
Asparagine- zuur	10,8	11,0	14,1	11,2	11,3	12,4	13,8	7,5	9,2
Threonine	5,5	5,2	6,0	5,5	4,8	6,6	5,9	1,7	4,6
Serine	5,9	4,5	7,7	5,1	5,4	6,7	6,4	4,6	4,8
Glutamine- zuur	16,3	13,1	10,2	14,5	13,5	14,6	13,1	8,8	14,2
Proline	5,4	5,7	4,9	5,9	5,9	-	-	4,7	5,2
Glycine	5,7	6,0	7,4	7,2	6,0	14,0	15,5	3,4	5,3
Alanine	5,4	4,6	4,2	4,9	4,9	12,7	11,2	4,1	6,9
Valine	5,4	5,3	5,5	3,1	5,2	8,1	8,0	3,2	5,4
Methionine	2,8	2,2	2,6	3,7	3,7	0,0	0,0	0,9	2,7
Isoleucine	4,9	5,6	5,4	6,4	6,8	6,2	6,3	2,6	5,3
Leucine	7,9	8,9	8,4	10,1	10,0	8,2	8,9	6,1	8,0
Tyrosine	7,3	10,5	7,7	5,4	6,6	2,9	2,9	3,7	4,5
Phenyla- lanine	7,7	5,1	10,4	8,5	8,5	4,3	5,6	3,2	4,7
Histidine	3,8	4,9	3,5	3,8	2,7	3,2	2,5	1,3	1,8
Lysine	10,6	11,7	8,7	10,7	9,3	-	-	6,1	7,6
Arginine	10,9	11,5	9,8	9,8	9,7	-	-	5,0	6,6

¹Seidel et al. (1980)

²Claus et al. (1979) - 48 h oude larven

³Watanabe et al. (1978a)

⁴Gallagher en Brown (1975)

Tabel XCVIII Het vetgehalte en de vetzuursamenstelling (% van het totaal aan vetzuren) van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong (-:niet detecteerbaar)

F.A.M.E. / Ras	SB	MAC	SFB	SPB	MS	GSL	RAC	CHA	TIE	LAV
14:0	1,34	1,57	1,57	0,43	1,53	0,93	1,79	0,83	1,80	1,73
14:1	2,23	0,81	0,74	2,26	3,30	1,45	2,92	1,67	2,24	3,03
16:0	13,45	15,42	12,13	7,79	15,23	11,78	12,70	9,99	11,40	11,90
16:1 ω 7	9,97	10,79	19,52	5,24	10,38	5,64	16,78	9,03	19,06	11,34
16:3 ω 4/17:1 ω 8	3,87	3,88	2,32	2,44	3,28	2,90	4,33	1,47	2,54	2,20
18:0	3,07	2,79	2,90	3,08	3,17	4,07	4,07	5,12	3,99	4,21
18:1 ω 9	28,23	35,86	31,20	29,15	29,05	28,58	30,37	28,24	26,81	24,73
18:2 ω 6	5,78	9,59	3,69	4,60	6,79	4,60	9,62	7,95	4,68	6,14
18:3 ω 3	14,77	4,87	5,16	33,59	6,35	31,46	2,55	19,87	7,38	20,90
18:4 ω 3	4,37	0,96	1,28	4,88	1,01	3,10	-	1,60	1,26	2,04
20:2 ω 6/20:3 ω 6	0,91	2,82	2,23	0,29	1,67	0,57	0,20	0,44	0,15	1,13
20:3 ω 3/20:4 ω 6	-	-	2,69	1,48	-	-	5,82	4,21	3,34	2,45
20:5 ω 3	10,50	8,98	12,44	1,68	13,63	3,55	8,45	9,52	15,35	8,01
22:6 ω 3	0,26	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-
Totaal vet mg/g DS	185	202	159	160	156	224	209	143	201	152

(Castell, 1979 ; Watanabe, 1979). Op basis van hun relatief gehalte aan deze vetzuren kunnen de onderzochte Artemia-rassen onderverdeeld worden in 3 groepen : de rassen die een laag gehalte aan 18:3 ω 3 bezitten gekoppeld aan een hoog gehalte aan 20:5 ω 3 (MAC, SFB, RAC, TIE, MS) ; de rassen die een hoog gehalte aan beide vetzuren bezitten (CHA, SB, LAV) ; de rassen die een hoog gehalte aan 18:3 ω 3 en een laag gehalte aan 20:5 ω 3 bezitten (SPB, GSL). Het zijn precies deze laatste 2 rassen met een geringe concentratie aan 20:5 ω 3 die de hoogste mortaliteiten veroorzaakten bij diverse predatoren. Dit was meer uitgesproken voor San Pablo Bay dat nog een geringer gehalte aan 20:5 ω 3 bezit dan voor Great Salt Lake. Dit verband tussen het gehalte aan deze vetzuren en de nutritionele geschiktheid van Artemia werd reeds vooropgesteld door Watanabe et al. (1978d) die stelden dat "the class of EFA (essential fatty acids) contained in Artemia principally 20: 5 ω 3 and 22:6 ω 3 is the principle factor in the food value of Artemia to fish." Diverse auteurs hebben bovendien reeds aangetoond dat mariene vissen evenals mariene crustaceeën over zeer beperkte mogelijkheden beschikken om de C 18 poly-onverzadigde vetzuren te verlengen en te desatureren tot ω 3-langketen poly-onverzadigde vetzuren van het type 20:5 ω 3 en 22:6 ω 3 (Kanazawa et al., 1977 ; Watanabe et al.; 1978b; Castell 1979, Jones et al., 1979 ; Tacon en Cowey, 1983).

Voor wat de diverse cystenmonsters van de San Francisco Bay-area betreft werd recent gepoogd de ware oorsprong van de monsters te bepalen en een relatie te leggen tussen het vetzuurpatroon en de nutritionele geschiktheid aan de hand van biometrische en biochemische analyses en nutritionele proeven. Uit de resultaten van deze experimenten (Tabel IC) bleek dat een goede overleving samengaat met een hoog gehalte aan 20:5 ω 3 terwijl hoge mortaliteiten bekomen worden bij gebruik van monsters arm aan 20:5 ω 3. Bovendien is ook de cystendiameter goed gekorreleerd met het vetzuurpatroon en de overleving van Mysidopsis. Daar de cystendiameter rasspecifiek is (zie Hoofdstuk 7.1.2.) hebben we goede grond om aan te nemen dat de monsters die goede overlevingsresultaten opleverden afkomstig zijn van San Francisco Bay terwijl deze die hoge mortaliteiten veroorzaakten afkomstig zijn van San Pablo Bay. De bekomen resultaten tonen dus aan dat het tekort aan langketen poly-onverzadigde vetzuren de belangrijkste reden is van de nutritionele deficiëntie der San Pablo Bay-larven. Dit wordt verder bevestigd door de verbeterde resultaten die bekomen werden na aanrijking van Artemia-nauplii deficiënt aan 20:5 ω 3 of 22:6 ω 3 (Watanabe, 1979 ; Watanabe et al. 1980 ; Futjita et al. 1980 ; Gatesoupe et al. 1982 ; Léger et al., 1983a)

Voor wat de Great Salt Lake-nauplii betreft kon tot op heden nog geen definitieve bevestiging bekomen worden voor de rechtstreekse invloed van het

Tabel IC. Resultaten van de biometrische, biochemische en nutritionele karakterisatie van diverse monsters afkomstig van de San Francisco Bay-area (naar Léger et al., 1983b)

Monster nr.	2596	7803	1448	1739	3150	3288	1628
overleving van <u>Mysidopsis</u> (%)	93,3	81,3	52,0	40,7	56,8	60,0	57,1
18:3 ω 3 (%)	7,8	4,2	23,1	28,2	29,0	27,7	31,0
20:5 ω 3 (%)	7,9	13,8	3,4	0,5	1,3	1,4	0,2
Cystendiameter (μ m)	224,7	225,8	228,5	235,1	235,7	233,3	235,6

vetzuurpatroon op de nutritionele geschiktheid van dit Artemia-ras. Hierbij dient opgemerkt dat het gehalte aan $20:5\omega3$ duidelijk hoger ligt bij Great Salt Lake-nauplii dan bij San Pablo Bay-nauplii. Het feit dat een Great Salt Lake-dieet enkel negatieve resultaten tot gevolg had bij organismen die een metamorfose (gevoelig stadium) doormaakten zou er kunnen op wijzen dat de concentratie $20:5\omega3$ van dit ras een grenswaarde is (zie ook verder).

Naast een deficiëntie aan één of andere voedingskomponent kan ook de aanwezigheid van toxische stoffen aan de basis liggen van een verhoogde mortaliteit of verminderde groei van de testorganismen. Vanuit dit oogpunt werden in de nauplii de concentraties aan gechlloreerde koolwaterstoffen en zware metalen bepaald (Olney et al., 1980 ; Seidel et al., 1982). De resultaten van de pesticidenanalyses zijn gegroepeerd in Tabel C. Alhoewel er een ruime variatie is tussen de diverse rassen kunnen de negatieve resultaten bekomen met San Pablo Bay-en Great Salt Lake-nauplii niet gebonden worden aan een hoge graad van kontaminatie. De rassen die de hoogste DDT-koncentraties hebben (MS en TIE) leverden een goede overleving en groei op. De bekomen resultaten ontkrachten dan ook de hypothese van Bookhout en Costlow (1970), dat de DDT-koncentratie zou verantwoordelijk zijn voor de slechte resultaten met Great Salt Lake-nauplii. Er dient echter wel aan toegevoegd dat de DDT-koncentratie van Great Salt Lake-nauplii vanaf 1965 tot 1978 voortdurend gedaald is (Simpson et al., 1983).

San Pablo Bay-nauplii hebben wel een hoger gehalte aan c-chlordaan en diëldrin dan de overige rassen. Ten einde het mogelijk effect van deze componenten te bestuderen werden Artemia-nauplii zowel via het voedsel als via het water gekontamineerd met deze 2 stoffen. De voederproeven uitgevoerd met deze gekontamineerde nauplii als voedselbron voor Pseudopleuronectes en Rhithropanopeus lieten echter niet toe deze kontaminatie als kausaal effect naar voor te brengen (McLean, 1980 ; Johns et al., 1981 ; Simpson et al., 1983). Epifiano (1972) konstateerde bovendien geen negatief effect bij decapodenlarven gevoed met Artemia-nauplii die tot 150 ng/g diëldrin bevatten.

Meldenswaardig is hier zeker de hypothese van Schauer et al. (1980) dat een negatief effect kan optreden ten gevolge van een tekort aan $20:5\omega3$ gekoppeld aan de aanwezigheid van relatief hoge pesticidenconcentraties.

Volgens Watanabe et al. (1978c) zou de mineralensamenstelling van Artemia geen belangrijke faktor zijn voor de nutritionele waarde. De mine-

Tabel C. De concentratie (ng/g natgewicht) aan gechlorineerde koolwaterstoffen in Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong (- : niet detekteerbaar ; na : niet geanalyseerd)

Pesticide/Ras	MAC	SB	MS	GSL	SPB	SFB	RAC	CHA	LAV	TIE
HCB	0,1	0,2	4,4	0,4	0,5	0,7	0,3	0,3	1,8	97,0
α HCB	1,1	0,6	5,2	5,9	3,1	1,4	0,2	1,6	0,3	23,0
HCB	0,8	-	5,0	1,9	3,2	2,8	-	-	2,2	16,0
c.-chlordan	0,1	-	2,2	0,8	14,0	6,6	-	-	0,4	0,2
t-nonachlor	-	-	-	1,2	5,5	8,3	0,1	0,1	0,3	0,4
diëldrin	0,2	0,1	-	0,7	1,4	1,2	na	na	na	na
op-DDE	0,4	-	3,9	0,7	5,3	6,7	na	na	na	na
pp-DDE	1,2	1,3	100,0	2,2	18,0	10,0	1,4	3,0	14,0	85,0
pp-DDD	0,4	-	74,0	3,0	13,0	22,0	0,4	0,4	3,8	22,0
op-DDT	0,4	0,2	60,0	0,2	1,0	2,0	-	-	-	0,9
pp-DDT	1,9	4,3	188,0	1,2	4,6	2,0	0,3	-	7,1	64,0
Σ DDT's	4,3	5,8	422,0	7,3	42,0	42,6	2,1	3,4	24,9	171,9
PCB (1016)	5,3	2,0	5,3	3,2	14,0	18,0	1,0	6,2	8,6	6,3
PCB (1254)	1,6	0,9	19,0	6,5	29,0	23,0	0,2	5,6	32,0	43,0
PCB (1260)	-	-	7,5	4,9	22,0	2,8				
Σ PCB's	6,9	2,9	31,8	14,6	65,0	43,8	1,2	11,8	40,6	49,3

ralensamenstelling van een 3-tal Artemia-rassen (San Francisco Bay, Zuid Amerika en Canada) vertoonde geen noemenswaardige verschillen. Olney et al. (1980) die het gehalte aan zware metalen in de nauplii van 4 Artemia-rassen bestudeerden (Tabel CI), besloten dat de mortaliteiten teweeggebracht door het gebruik van San Pablo Bay-en Great Salt Lake-nauplii niet konden gekorreleerd worden met een hogere concentratie aan zware metalen. Hier dient echter opgemerkt dat bepaalde zeer toxische metalen, zoals kwik niet in de analyses betrokken werden. Bovendien stelde Blust (1981) duidelijk hogere concentraties aan koper vast bij diverse Great Salt Lake-monsters (16-84 $\mu\text{g/g}$ drooggewicht) wat kan verklaard worden door de aanwezigheid van een koperraffinaderij op de oevers van Great Salt Lake (Zahl, 1967). Opvallend is ook dat het monster gebruikt voor de ISA-studies geoogst in 1977 ongeveer 80 $\mu\text{g/g}$ Cu bevatte, terwijl het monster nr. 18 dat in voederproeven met krablarven tot goede resultaten leidde (Goy en Costlow, 1980) slechte 16 $\mu\text{g/g}$ Cu bevatte.

Uit het geheel der chemische analyses kan besloten worden dat, op voorwaarde dat de afmetingen der nauplii niet interfereren, vooral de vetzuursamenstelling der nauplii bepalend is voor hun voedende waarde. Dit blijkt zeker het geval te zijn voor de San Pablo Bay-nauplii. Voor Great Salt Lake-nauplii is het relatief laag gehalte aan $20:5\omega3$, eventueel gekoppeld aan een relatief hoog Cu-gehalte wellicht verantwoordelijk voor de mortaliteit die bij sommige organismen optrad. De analyse-resultaten hebben echter geen sluitende verklaring opgeleverd voor de minder goede groeieresultaten bekomen bij gebruik van Chaplin Lake-nauplii als voedselbron. Chaplin Lake-nauplii bezitten een hoog gehalte aan $20:5\omega3$ en zijn zeer weinig gekontamineerd door gechloreerde koolwaterstoffen en zware metalen. De volgende bijzonderheden van biologische en energetische aard die wij voor dit specifiek ras in de loop van onze studie genoteerd hebben, kunnen in dit verband wellicht enige klaarheid brengen :

- de Chaplin Lake-cysten zijn de enige van alle onderzochte cysten-monsters die afkomstig zijn van een sulfaatmeer;
- ze metaboliseren bijzonder veel energie gedurende het ontluikingsproces ;
- ze hebben een relatief geringe energetische inhoud en de niet gevoede larven verbruiken zeer snel hun energiereserves ;

Tabel CI. Het gehalte aan metalen ($\mu\text{g/g}$ drooggewicht) in *Artemia*-nauplii van diverse geografische oorsprong (naar Olney et al., 1980)

Metaal / Ras	MAC	MS	GSL	SPB
Fe	62	70	47	46
Zn	89	104	102	98
Pb		3,0	6,2	3,8
Cu	6,3	9,2	8,2	10,8
Cd	0,15	0,12	0,14	0,10
Cr	1,4	0,66	1,1	0,48
Ni	0,29	0,09	0,7	0,12
Co	0,38	0,14		
Rb	12	7,5	23	6,5

- wellicht als gevolg van deze karakteristieken hebben de niet gevoede larven een geringe overlevingscapaciteit in natuurlijk zeewater.

Een voor de praktijk zeer belangrijk aspect dat voorlopig nog niet aan bod gekomen is, is de vraag in hoeverre de nutritionele waarde der nauplii rasspecifiek is of kan verschillen van monster tot monster voor eenzelfde ras. De vastgestelde verschillen tussen de San Pablo Bay- en San Francisco Bay-monsters kunnen, hoewel ze onder dezelfde merknaam verdeeld worden en dus in de praktijk tot verwarring kunnen leiden, niet als variaties tussen de monsters van eenzelfde ras beschouwd worden. De cystenmonsters zijn immers afkomstig van 2 verschillende biotopen. Het is dan ook moeilijk te achterhalen of de verschillen in vetzuurpatroon die Watanabe et al. (1980) tussen zogenoemde San Francisco Bay-monsters vaststelden niet te wijten zijn aan een afwisselende bevoorrading met San Francisco Bay- en San Pablo Bay-cysten.

Johns et al. (1980) die de nutritionele waarde van diverse Great Salt Lake- en Macau-monsters bestudeerden voor Rhithropanopeus, stelden vast dat alle Great Salt Lake-monsters grote mortaliteiten veroorzaakten terwijl alle Macau-monsters een goede overleving waarborgden. Goy en Costlow (1980) konden echter een goede overleving der krablarven noteren op een specifiek Great Salt Lake-monster. Volgens Sanders (pers. meded.) werd dit monster geogst op een andere plaats van het Great Salt Lake, verder afgelegen van de koperraffinaderij. Deze gegevens tonen dus aan dat verschillen in nutritionele waarde kunnen optreden tussen monsters van eenzelfde biotoop. Dit kan zich voordoen wanneer het biotoop tijdelijk extra belast wordt door kontaminatie of wanneer de aard van het voedsel beschikbaar voor Artemia verandert. Het vetzuurpatroon van het voedsel van het biotoop weerspiegelt zich immers in het vetzuurpatroon van de adulte Artemia en de geproduceerde cysten (Hinchcliff en Riley, 1972 ; Simpson et al., 1983).

De nutritionele waarde van Artemia-nauplii is dus niet genetisch gebonden doch afhankelijk van het milieu waar de nauplii geproduceerd worden. Dit wordt goed geïllustreerd in de studie van Vos et al. (1983). Hierbij werden, naast andere karakteristieken het vetzuurpatroon en de nutritionele waarde voor Mysidopsis larven bepaald van Artemia-monsters die na inokulatie met eenzelfde parentaal materiaal in verschillende biotopen geproduceerd werden. 3 van de 4 monsters leverden een goede overleving en groei op en hadden een hoog gehalte aan 20:5 ω 3. De nauplii afkomstig van cysten geproduceerd te Jaro (Filippijnen) waren echter deficiënt aan 20:5 ω 3

en veroorzaakten een significant hogere mortaliteit. Alhoewel ze niet ras-specifiek is kunnen we toch verwachten dat de voedingswaarde van de nauplii van bepaalde geografische oorsprong normaal gezien weinig veranderingen zal ondergaan mits zich geen grote menselijke interventies voordoen. Het is immers zo dat de hypersaline Artemia-biotopen een eenvoudige, specifieke trofische structuur hebben (Williams, 1972).

In verband met het belang van de voeding van Artemia op de voedende waarde der nauplii kan tenslotte nog opgemerkt worden dat Great Salt Lake door de jaren heen gekenmerkt is door een grote dominantie van Dunaliella (Stephens en Gillespie, 1976 ; Post 1977b), een groenwier dat deficiënt is aan langketen poly-onverzadigde vetzuren (Scott en Middleton, 1979). Dit kan wellicht de lage concentraties aan deze vetzuren in Great Salt Lake-nauplii verklaren. De flora van San Francisco Bay en dan de sulfaatmeren van Saskatchewan (waaronder Chaplin Lake) is daarentegen meer gediversifieerd (Carpelan, 1957 ; Haynes en Hammer, 1978). Voor de overige biotopen waar cysten commercieel geëxploiteerd worden, zijn in dit verband jammer genoeg geen literatuurgegevens beschikbaar.

13.3.. De nutritionele geschiktheid van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong voor larven van de karper (Cyprinus carpio L.)

De nutritionele evaluatiestudies die in het raam van de "International Study on Artemia" uitgevoerd werden, hebben zeer belangrijke informatie opgeleverd omtrent de nutritionele geschiktheid van de nauplii van diverse geografische oorsprong. De algemene toepasbaarheid van de bekomen resultaten in de praktijk is echter enigszins beperkt daar tot nog toe geen commerciële vis- of crustaceeënsoorten bestudeerd werden. Bovendien is er nog geen informatie beschikbaar voor zoetwater organismen. Om die reden hebben wij de nutritionele waarde van de belangrijkste Artemia-rassen die op de markt beschikbaar zijn, geëvalueerd voor larven van de karper, een commerciële zoetwatervis.

De karpereitjes werden ons bezorgd door de afdeling Visteelt van de Landbouwhogeschool van Wageningen. Ze werden gekubeerd in een aquarium (80 l) dat doorstroomd werd met goed belucht leidingwater van 21°C. De doorstroomsnelheid bedroeg 20 l/h. Na 4 dagen kwamen de larfjes te voorschijn. 2 dagen later werden de larven, die hun dooierreserve geab-

sorbeerd hadden, verdeeld over de kweekrecipiënten. De dag daarop werd de proef gestart.

De voedingsproef werd uitgevoerd in een doorstroomsysteem met 36 aquaria. Elk aquarium had een inhoud van 8 l. De doorstroomsnelheid was zo geregeld dat de retentietijd van het vooraf geëtereerd leidingwater 2 h bedroeg. Daarbij was elk aquarium voorzien van een zeefstelsel zodat de vervoederde Artemia niet met het leidingwater konden wegspoelen (Fig. 81). De gemiddelde temperatuur van het water in de testaquaria bedroeg over gans de proefperiode 22.6°C (+ 0.7°C). De temperatuur werd 2 maal daags gecontroleerd. Een konstante fotoperiode van 14 h licht en 10 h duisternis werd aangehouden. Het O₂-gehalte dat dagelijks gecontroleerd werd, daalde niet onder 4,5 mg/l.

Van elk uit te testen Artemia-ras, alsook voor de niet gevoede referentie waren 3 aquaria beschikbaar. In elk aquarium werden 70 karperlarfjes gebracht. Het aangewende voedselschema was gebaseerd op de gegevens van Bryant en Matty (1980) :

dag 1 - dag 4	200 % van het lichaamsgewicht/dag
dag 5 - dag 6	150 % van het lichaamsgewicht/dag
dag 7	125 % van het lichaamsgewicht/dag
dag 8 - dag 12	100 % van het lichaamsgewicht/dag
dag 13 - dag 14	75 % van het lichaamsgewicht/dag

Het verloop van het gewicht der karperlarven gedurende de testperiode werd in een preliminaire proef onder identieke omstandigheden vastgelegd. De gegevens van deze proef werden gebruikt voor de bepaling van de exakte kwantiteit voedsel die dagelijks diende verstrekt te worden. Dagelijks werden tussen 9 h en 19 h 5 voederbeurten voorzien. Tijdens de weekends werd dit aantal beperkt tot 4. Voor de eerste voederbeurt werden iedere dag de niet opgenomen Artemia-nauplii en de faeces der karperlarven verwijderd.

De Artemia-nauplii van de diverse geografische rassen werden bekomen na inkubatie onder standaardomstandigheden (25°C, 35 ‰, 1000 lux). De cysten van Chaplin Lake werden echter geïnkubeerd bij een saliniteit van 5 ‰. Op de T90 werden de nauplii geoogst en gescheiden van de lege cystenschalen en niet ontloken cysten. Daarop werden de nauplii grondig gespoeld met leidingwater, gedurende 1 min ontwaterd op filtreerpapier en afgewogen (nauwkeurigheid 0,1 mg). Het gehalte aan droge stof van de aldus behandelde nauplii

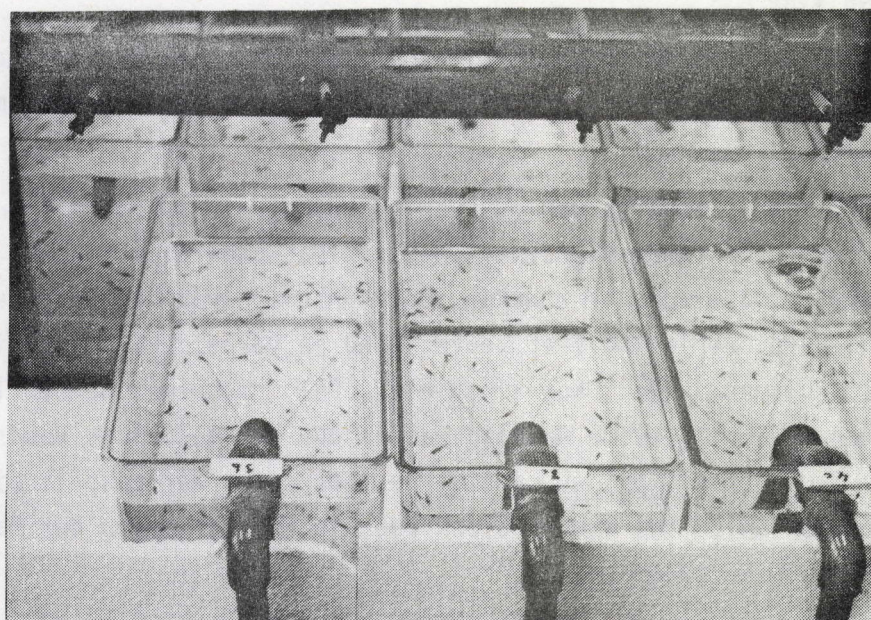


Fig.81. Voorstelling van de proefopstelling voor de voederproef met karperlarven

werd voor een 20-tal monsters afkomstig van alle bestudeerde rassen bepaald en bedroeg 19,8 % ($\pm 0,6$ %). De afgewogen hoeveelheid nauplii werd geresuspendeerd in een gekend volume zeewater in een cylindrokonische buis. De nauplii werden bewaard bij 12-14°C in een koelkast in cylindrokonische buizen voorzien van een milde aëratie. Dagelijks werd voor elk ras een verse voedselstock opgemaakt.

Voor 1 ras, namelijk Macau, werd de invloed van de bewaring der nauplii bij lage temperaturen (2-4°C) op hun voedingswaarde nagegaan. Daartoe werden 2 monsters nauplii van dit ras gedurende respectievelijk 24 h en 48 h in een koelkast bewaard vooraleer ze aan de karperlarven vervoederd werden.

De overleving der karperlarven werd dagelijks nagegaan en de afgestorven larven werden verwijderd. Na 7 dagen werd een gewichtsanalyse uitgevoerd op een deelmonster van 10 à 15 larven. Na 14 dagen werden alle karperlarven uit ieder aquarium gewogen. Daartoe werden ze eerst op een filtreerpapier gebracht en voorzichtig afgedroogd. Voor de start van de proef werd eveneens het gewicht bepaald van een deelmonster niet gevoede larfjes van 3 dagen oud. Het individueel gewicht der larven bij de aanvang van de proef bedroeg 1,40 mg.

De gemiddelde overlevingscijfers en het gemiddeld gewicht der karperlarven na een kweekperiode van respectievelijk 7 en 14 dagen zijn samengevat in Tabellen CII en CIII.

Een statistische analyse van de overlevingscijfers (variantie-analyse model I na $\arcsin \sqrt{\%}$ -transformatie) wees uit dat geen significante verschillen in mortaliteit optraden na 2 weken. Onafhankelijk van het uitgeteste Artemia-ras was de overleving zeer bevredigend in vergelijking tot literatuurgegevens (Huisman, 1974 ; Kouril et al., 1981). Voor wat de overleving betreft vormen alle uitgeteste Artemia-rassen dus een geschikte voedselbron voor de larven van Cyprinus carpio. De stockering der nauplii bij 3°C voor een periode van 24 tot 48 h bleek evenmin de overleving der karperlarven negatief te beïnvloeden.

In tegenstelling tot de mariene predatoren kunnen karperlarven zeer goed overleven op een San Pablo Bay-dieet. Usher en Bengtson (1981) konden ook voor Cyprinodon variegatus, een euryhalieene soort, goede overlevingscijfers noteren voor dit ras. De vaststelling dat de karper, een zoetwater-soort, een betere overleving kent op een San Pablo Bay-dieet dan de mariene

Tabel CII. Overleving en gewicht der karperlarven opgekweekt met nauplii van diverse geografische oorsprong

Geografische oorsprong	Overleving (%)	Individueel gewicht na 7 dagen (mg)		Individueel gewicht na 14 dagen (mg)	
		\bar{X}	s	\bar{X}	s
Margherita di Savoia	94,3	31,9 ^{a1}	2,0	188,4 ^a	8,0
Tientsin	96,7	32,2 ^a	2,1	184,9 ^a	5,3
Shark Bay	95,7	31,8 ^a	2,1	180,4 ^{a,b}	5,2
Lavalduc	95,2	31,0 ^a	2,8	179,5 ^{a,b}	5,5
Macau	95,7	30,3 ^a	2,2	173,1 ^{b,c}	2,9
Great Salt Lake ³	93,3	29,7 ^a	1,5	170,7 ^{b,c}	2,3
San Pablo Bay	93,3	28,9 ^a	2,3	169,5 ^{b,c}	5,1
San Francisco Bay	93,3	29,9 ^a	3,6	166,4 ^c	12,3
Chaplin Lake	95,2	24,6 ^b	0,9	143,4 ^d	0,2
Niet gevoede controle	6,0 ²	-	-	-	-

¹ de resultaten gegroepeerd door eenzelfde letter zijn niet significant verschillend op het 0,05-niveau

² per vergissing werden de larven eenmaal gevoed

³ monster nr 185 (1979)

Tabel CIII. Overleving en gewicht der karperlarven opgekweekt met nauplii gestockeerd bij 3°C

Stockeringskondities	Overleving (%)	Individueel gewicht na 7 dagen (mg)		Individueel gewicht na 14 dagen (mg)	
		\bar{X}	s	\bar{X}	s
Pas ontloken nauplii	95,7	30,3 ^{a1}	2,2	173,1 ^a	2,9
24 h gestockeerd	95,7	30,3 ^a	2,3	169,5 ^a	6,4
48 h gestockeerd	93,3	27,8 ^a	2,4	159,3 ^b	3,2

¹ de resultaten gegroepeerd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend op het 0,05-niveau

soorten bevestigt de stelling dat het laag gehalte aan het vetzuur 20:5 ω 3 in San Pablo Bay-nauplii de reden is voor de hoge mortaliteit bij de mariene predatoren. De vetzuurbehoeften van zoetwatervissen kunnen immers voldaan worden door C-18 poly-onverzadigde vetzuren, wat niet het geval is voor mariene vissen. De karper heeft daarbij lagere behoeften aan essentiële vetzuren dan de forel (Watanabe *et al.*, 1975). De behoeften van de karper kunnen reeds voldaan worden door een dieet met 1 % 18:2 ω 6 en 1 % 18:3 ω 3 die onderling een additief effect vertonen (Takeuchi en Watanabe, 1977 ; Watanabe, 1979 ; Castell, 1979). Deze concentraties worden ruimschoots overschreden in de nauplii van alle uitgeteste Artemia-rassen (zie Tabel XCVIII).

De specifieke groeisnelheid (%/dag), gegeven door
$$\frac{\ln G_t - \ln G_0}{T - t}$$
 (waarbij G_t het eindgewicht, G_0 het initieel gewicht en $T-t$ de duur van de kweekperiode in dagen is) varieerde tussen 41 en 45 % / dag na 7 dagen en tussen 33 en 35 % / dag na 2 weken. Deze waarden, die zeer hoog liggen komen goed overeen met de maximale waarden bekomen door Bryant en Matty (1980), namelijk 45 à 52 % / dag na 5 dagen en ongeveer 34 % / dag na 10 dagen. Uit Tabel CII blijkt echter duidelijk dat de gewichtstoename der karperlarven afhankelijk is van het Artemia ras waarmee zij gevoed worden. De Chaplin Lake-nauplii veroorzaken reeds een significant geringere groei na 7 dagen. Na 2 weken blijven de karperlarven gevoed met Chaplin Lake-nauplii duidelijk achterop ten opzichte van de larven die gevoed werden met andere Artemia-rassen. Het gebruik van Margherita di Savoia-en Tientsin-nauplii levert significant betere groeieresultaten op dan het gebruik van de meeste andere rassen. Voor wat de overige rassen betreft zijn de verschillen eerder gering.

Het belang van de grootte der voedselpartikels voor de groei van karperlarven werd onderstreept door Kouril (1981) en Kouril *et al.* (1981), die vaststelden dat de groei rechtstreeks gekorreleerd was met de afmetingen van het zoöplankton dat ter beschikking gesteld werd. In dit licht werd een korrelatie-analyse uitgevoerd tussen de biometrische karakteristieken van Artemia en het gewicht der karperlarven na 2 weken (zie Tabel CIV, Fig. 82). Hierbij werd het ras van Chaplin Lake echter buiten beschouwing gelaten, daar wij menen dat de minder goede resultaten bekomen bij gebruik van dit ras een andere oorzaak hebben (zie hieronder). De zeer significante korrelatie tussen de afmetingen en het gewicht der nauplii enerzijds en de groei der karperlarven anderzijds duidt erop dat de groei der karperlarven kan verbeterd worden door het gebruik van Artemia-rassen die grote

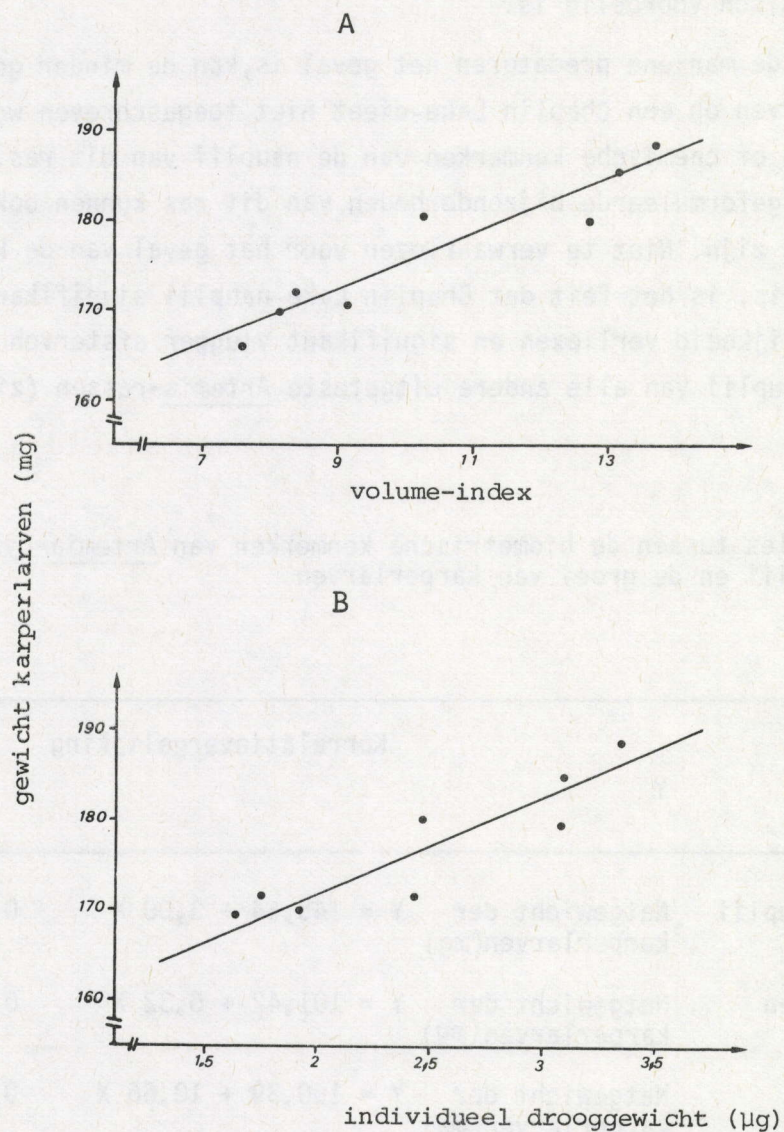


Fig. 82. De korrelatie tussen de volume-index der nauplii (A) en het drooggewicht der nauplii (B) en het gewicht der opgekweekte karperlarven

nauplii produceren. Dit bevestigt de reeds vroeger geformuleerde hypothese (zie Hoofdstuk 7.4.) dat zolang de afmetingen der nauplii niet interfere- ren bij de opname ervan (zoals bij de karper), het gebruik van grote Artemia-nauplii energetisch voordelig is.

Net zoals bij de mariene predatoren het geval is, kan de minder goede groei der karperlarven op een Chaplin Lake-dieet niet toegeschreven worden aan de biometrische of chemische kenmerken van de nauplii van dit ras. De in hoofdstuk 13.2. geformuleerde bijzonderheden van dit ras kunnen ook hier wellicht van belang zijn. Niet te verwaarlozen voor het geval van de karper, een zoetwatervis, is het feit dat Chaplin Lake-nauplii significant vlugger hun beweeglijkheid verliezen en significant vlugger afsterven in zoetwater dan de nauplii van alle andere uitgeteste Artemia-rassen (zie Hoofdstuk 9.2.).

Tabel CIV. Korrelaties tussen de biometrische kenmerken van Artemia-cysten en -nauplii en de groei van karperlarven

Variabelen X	Y	Korrelatievergelijking	r
Volume index der nauplii	Natgewicht der karperlarven(mg)	$Y = 145,64 + 3,00 X$	0,90
Diameter gedek.cysten (μm)	Natgewicht der karperlarven(mg)	$Y = 101,42 + 0,32 X$	0,93
Ind. drooggewicht der nauplii (μg)	Natgewicht der karperlarven(mg)	$Y = 150,39 + 10,66 X$	0,89
Lengte der nauplii (μm)	Natgewicht der karperlarven (mg)	$Y = 94,71 + 0,17 X$	0,82

De resultaten van deze voederproef te samen met de gegevens omtrent de ontluiingsopbrengst van de cysten van diverse geografische oorsprong (zie Hoofdstuk 8.6.), laten ons toe een eerste bio-ekonomische evaluatie van het gebruik van Artemia-cystenmonsters uit te voeren. Daar het gebruik van Artemia bij de karperkweek meestal beperkt blijft tot ongeveer 1 week (Coche en Bianchi, 1979) werden tevens de gewichtsgegevens bereikt na 1 week in beschouwing genomen. Gedurende de eerste week kreeg elke karperlarve 13,82 mg drooggewicht nauplii ; gedurende de ganse proefperiode werden 97,75 mg drooggewicht nauplii toegediend per karperlarye.

De kwantiteit cysten vereist voor de produktie van een welbepaalde hoeveelheid karperlarven is weergegeven in Tabel CV. Het is duidelijk dat de hoeveelheid cysten die dient gebruikt te worden per eenheid karperbiomassa aanzienlijk verschilt van ras tot ras. De verschillen die na 1 week kunnen genoteerd worden blijven ongeveer dezelfde na 2 weken. De benodigde cystenhoeveelheid blijkt vooral bepaald te worden door de ontluikingskwaliteit der cysten. Hierbij dient opgemerkt te worden dat voor wat deze parameter betreft aanzienlijke verschillen kunnen genoteerd worden tussen de monsters van eenzelfde Artemia-ras (zie Hoofdstuk 8.6.). Op uitzondering van Chaplin Lake, variëren de produktieresultaten immers slechts in geringe mate tussen de Artemia-rassen. In elk geval is het duidelijk dat, hoewel alle bestudeerde cystenmonsters een geschikt dieet vormen voor karperlarven, een zorgvuldige selektie kan leiden tot een aanzienlijke besparing van cysten. Het gebruik van het Shark Bay-of Lavalduc-

Tabel CV. Bio-ekonomische evaluatie van het gebruik van specifieke Artemia-cystenmonsters van diverse geografische oorsprong voor karperlarven

Geografische oorsprong	Hoeveelheid cysten nodig per karperlarve (mg)		Hoeveelheid cysten nodig voor de produktie van 1 g karperbiomassa (g)	
	In 1 week	In 2 weken	In 1 week	In 2 weken
Lavalduc	24.6	174.0	0.79	0.98
Shark Bay	25.7	181.9	0.81	1.01
Macau	26.1	184.8	0.86	1.08
Margherita di Savoia	30.2	217.7	0.95	1.16
San Pablo Bay	27.8	196.4	0.96	1.17
Great Salt Lake	29.6	209.3	1.00	1.24
San Francisco Bay	31.7	224.5	1.06	1.36
Tientsin	34.5	244.1	1.07	1.32
Chaplin Lake	34.5	244.1	1.40	1.72

cystenmonster kan hier aanbevolen worden. In vergelijking tot de andere cystenmonsters dient inderdaad 10 tot 75 % minder materiaal gebruikt te worden.

In praktijk dient de keuze van een specifiek Artemia-ras en zelfs een cystenmonster dus vooral gebaseerd te zijn op de prijs en de ontluikingskwaliteit. Wanneer zowel prijs als ontluikingskwaliteit vergelijkbaar zijn, genieten de Artemia-rassen die grote nauplii produceren de voorkeur.

13.4. Konklusies in verband met de verbeterde toepassingsmogelijkheden in de aquakultuur

Het geïntegreerd onderzoeksprogramma met betrekking tot de nutritionele karakteristieken van Artemia-nauplii van diverse geografische oorsprong heeft uitgewezen dat nutritioneel gezien niet alle rassen en monsters van eenzelfde ras dezelfde waarden hebben. Dit betekent dat de verantwoordelijken van aquakultuurkwekerijen in de toekomst niet alleen met de ontluikingskwaliteit doch ook met de nutritionele geschiktheid van de Artemia-produkten voor hun specifieke kultuurspecies dienen rekening te houden. Op die manier kan een massale mortaliteit van de gekweekte vis- en/of crustaceëenlarven (een fenomeen dat ons de laatste jaren uit diverse hoeken gemeld is) vermeden worden.

Daar de nutritionele waarde van een bepaald Artemia-ras kan variëren in functie van de soort predator, dienen voor iedere predator de meest geschikte rassen of monsters gekozen te worden. Hierbij dient men vooreerst rekening te houden met het opnamemechanisme van de predator om aldus in functie van de biometrische kenmerken der nauplii de meest gunstige rassen te selecteren. In de tweede plaats moeten de nutritionele behoeften van de predatoren achterhaald worden ; dit vooral met betrekking tot de vetzuurbehoeften. Algemeen kan gesteld worden dat mariene organismen behoefte hebben aan langketen poly -onverzadigde vetzuren van het type $20:5\omega3$. De volgende commercieel belangrijke organismen behoren tot deze groep : de tarbot, de pladijs, de zeebaars en Penaeus japonicus (Kanazawa et al., 1977 ; Castell, 1979 ; Jones et al., 1979 ; Watanabe, 1979). Zoetwaterpredatoren kunnen in hun vetzuurbehoeften voldaan worden door vetzuren van het type $18:3\omega3$ en $18:2\omega6$. Dit is het geval voor : de paling, de karper en tot op zekere hoogte de regenboogforel (Watanabe et al., 1975 ; Takeuchi en Watanabe, 1977 ; Castell, 1979 ; Watanabe, 1979). Vooraleer op grote schaal tot de aankoop van een Artemia-cystenmonster beslist wordt, kan een voorafgaande chemische analyse hier vele problemen voorkomen. De verschillen in nutritionele

behoeften der aquakultuurorganismen hebben tot gevolg dat alle voor het ogenblik op de markt zijnde Artemia-produkten effectief kunnen gebruikt worden. Zo kunnen de nutritioneel minderwaardige cystenmonsters zoals San Pablo Bay-cysten efficiënt gebruikt worden voor de kweek van zoetwatervissen. Wanneer de nutritionele minderwaardigheid zich tevens weerspiegelt in een lagere verkoopprijs, wat nu reeds min of meer het geval is voor Great Salt Lake-cysten, kan het gebruik van dergelijke monsters voor de zoetwatersoorten zelfs tot aanzienlijke besparingen leiden. Laat ons hopen dat in de toekomst de cystenverdelers het belang inzien van kwaliteitskontrolle, hetgeen misschien pas bij concurrentiedruk zal gebeuren ; naast gegevens omtrent de ontluikingskwaliteit zouden ook gegevens in verband met de chemische samenstelling van het betrokken Artemia-monster moeten vermeld worden.

De bekomen gegevens van het chemisch/nutritioneel onderzoek kunnen ook voor de Artemia-producenten belangrijke indicaties opleveren. Daar het vetzuurpatroon van de Artemia-produkten min of meer dit van het beschikbaar voedsel weerspiegelt, is het immers duidelijk dat door een verbetering van de voedselsamenstelling een hoogwaardiger Artemia-produkt kan bekomen worden. Dit is vooral toepasbaar en het overwegen waard bij inokulatieprogramma's waar door een aangepaste bemesting de kwaliteit van de geproduceerde cysten kan verbeterd worden. Zo was de nutritionele kwaliteit van na inokulatie geproduceerd cystenmateriaal goed in de biotopen waar organische meststoffen gebruikt werden ; bij gebruik van anorganische meststoffen was de voedingswaarde significant lager (Vos et al., 1983). In dit verband lijkt kippemest een zeer geschikt meststof. Kippemest bezit immers een relatief hoog gehalte aan langketen poly-onverzadigde vetzuren, vooral 22:6 ω 3, en blijkt bij de organismen die het als voedselbron toegediend krijgen hoge concentraties aan langketen poly-onverzadigde vetzuren op te leveren (Watanabe et al., 1978b).

Tenslotte hebben de bevindingen in verband met de nutritionele deficiëntie van Artemia-nauplii van bepaalde geografische rassen aanleiding gegeven tot de studie van de mogelijkheid de nutritionele kwaliteit te verbeteren. In dit verband kunnen we de voeding van de nauplii voor een paar dagen op een aangepast dieet (Fujita et al., 1980 ; Watanabe et al., 1980 ; Guatesoupe, 1982 ; Robin, 1982) en de mikro-enkapsulatie met poly-onverzadigde vetzuren (Sakamoto et al., 1982) citeren.

HOOFDSTUK 14. ALGEMENE BESLUITEN

Tot voor enkele jaren was behalve voor het Artemia-ras van San Francisco Bay en in mindere mate dit van Great Salt Lake weinig tot niets bekend over de kenmerken van de talrijke geografische rassen van het pekelkreeftje, Artemia. Taxonomische studies hadden niettemin reeds aangetoond dat de Artemia-populaties, die in geografisch geïsoleerde biotopen voorkomen, aanzienlijke verschillen vertoonden. Dit gaf aanleiding tot de onderverdeling van het genus Artemia in diverse soorten, variëteiten en biotypes.

In deze context en vooral ook met het oog op de stijgende interesse voor en de vraag naar Artemia-cysten, werd een aanvang genomen met de karakterisatiestudie van diverse Artemia-rassen. Hierbij werd tevens bijzondere aandacht besteed aan de optimalisatie van het gebruik van Artemia in de aquakultuur.

De belangrijkste bevindingen en besluiten van dit onderzoek dat op multidisciplinaire basis in nauwe samenwerking met een 5-tal instituten werd uitgevoerd kunnen als volgt geformuleerd worden.

1. Het voorkomen van Artemia in de natuur

Uitgaande van een grondige studie van de beschikbare literatuur konden wij ruim 300 Artemia-vindplaatsen lokaliseren. Wij zijn er echter van overtuigd dat doorgevoerde prospecties terzake zullen leiden tot de ontdekking van talrijke nieuwe vindplaatsen.

De hoge saliniteit is de gemeenschappelijke deler van alle biotopen ; zij bepaalt hun geografische distributie. Daar de saliniteit vooral afhankelijk is van de verhouding tussen de evaporatie en de neerslag, is de distributie van Artemia in ruime mate afhankelijk van het klimaat. De geografische verspreiding van Artemia blijkt dan ook zeer goed gekorreleerd te zijn met de onderverdeling der klimaattypes van Thornthwaite. Dit verband heeft de mogelijkheid geschapen de area's waar Artemia potentieel kan voorkomen of deze die geschikt zijn voor een transplantatie van Artemia, op wereldschaal vast te leggen. Bovendien kunnen aan de hand van klimaatstudies de potentiële area's voor inokulatie en produktie van Artemia gedurende een bepaald gedeelte van het jaar geïdentificeerd worden.

Artemia kan niet aangetroffen worden in alle biotopen met een hoge saliniteit en is bijgevolg niet kosmopolitisch. Dit is vooral het gevolg van het feit dat het pekelkreeftje geen actieve dispersie kent. De verspreiding

van Artemia gebeurt voornamelijk door vogels en door de mens.

De ekologie der Artemia-biotopen is tot nog toe in zeer beperkte mate bestudeerd. Uit de beschikbare literatuurgegevens in dit verband kan nochtans gekonkludeerd worden dat :

- grote fysische verschillen voorkomen tussen de biotopen ;
- Artemia-biotopen geïsoleerde eenheden zijn met specifieke biotische en abiotische karakteristieken ;
- Artemia-biotopen zeer dynamische entiteiten zijn ;
- Artemia-biotopen gekenmerkt zijn door een eenvoudige trofische structuur met geringe species-diversiteit.

De studie van de ekologie der Artemia-biotopen verdient een grote prioriteit, niet alleen uit ekologische overwegingen maar vooral om tot een verklaring te komen voor bepaalde verschillen tussen de Artemia-rassen die er voorkomen.

2. De genetische karakterisatie

Aan de hand van de genetische studies die in het raam van het ISA-programma werden uitgevoerd is gebleken dat :

- de reeds bestudeerde Artemia-rassen kunnen onderverdeeld worden in 5 verschillende "sibling species" ;
- een relatief hoge graad van genetische differentiatie voorkomt tussen de diverse rassen behorend tot eenzelfde "sibling species" ;
- vooral in de parthenogenetische groep de intra-genotypische differentiatie sterk uitgesproken is door de aanwezigheid van zowel diploïde, als triploïde, tetraploïde en pentaploïde populaties ;
- het Artemia parthenogenetica "sibling species" wellicht uit het Artemia tunisiana " sibling species" ontstaan is, terwijl het Artemia persimilis "sibling species" uit het Artemia franciscana "sibling species" zou ontsproten zijn.

3. Biometrische en energetische kenmerken der cysten en nauplii

De cystenafmetingen variëren in ruime mate van ras tot ras. De verschillen tussen de diverse monsters van eenzelfde ras zijn miniem in vergelijking tot de verschillen tussen de diverse geografische rassen. De cystendiameter blijft vrij konstant onafhankelijk van de plaats en de condities waarbij de cysten geproduceerd werden. Uitgaande van deze vaststellingen

kunnen we besluiten dat de cystendiameter een rasspecifiek kenmerk is. Hoewel ook hier binnen de "sibling species" een zekere differentiatie optreedt kunnen de cystenafmetingen gekorreleerd worden met de verschillende "sibling species": Artemia tunisiana is bisexueel doch produceert grote cysten met een dikke schaal, terwijl Artemia parthenogenetica zich parthenogenetisch voortplant en grote cysten aflegt ; de bisexuele "sibling species", Artemia franciscana en Artemia persimilis produceren kleine cysten. De fylogenetische verwantschap tussen de diverse "sibling species" van Artemia die uit de genetische karakterisatie was naar voor gekomen, wordt bevestigd door de biometrische kenmerken der cysten.

De studie van de biometrische kenmerken der cysten is een efficiënt hulpmiddel bij de identifikatie van de oorsprong van niet gespecificeerde cystenmonsters en bij de detektie van foutieve "labeling" of menging van cysten van diverse geografische oorsprong (bvb. onderscheid tussen San Francisco Bay-en San Pablo Bay-monsters) ;

De afmetingen der instar I-nauplii verschillen eveneens in ruime mate van het ene geografische ras tot het andere :

- de lengte varieert van 428 tot 517 μm ;
- het individueel drooggewicht der nauplii varieert van 1,61 tot 3,33 μg ;
- de volume-index loopt uiteen van 7,6 tot 13,6.

Er bestaat bovendien een zeer goede korrelatie tussen de diverse biometrische kenmerken der cysten en nauplii wat ons in de mogelijkheid stelt uitgaan- de van de diameter der cysten, die op eenvoudige wijze met de Coulter Counter^R apparatuur te meten is, vrij nauwkeurig ($\pm 10\%$) het individueel drooggewicht, de lengte en de volume-index der nauplii te bepalen.

De afmetingen van de nauplii vormen een zeer belangrijk criterium bij de keuze van welbepaalde Artemia-rassen voor de kweek van specifieke predatoren : - indien de afmetingen der nauplii niet interfereren met het

ingestiesysteem van de predator dan heeft men er alle belang bij Artemia-rassen te selekteren met grote nauplii. In dit geval zal de predator immers minder energie verbruiken bij de opname van een kleiner aantal grote energierijke nauplii om zijn voedselbehoeften te voldoen ;

- indien de grootte der nauplii kritisch is voor het opnamemechanisme van de predator kunnen betere resultaten verwacht worden

bij het gebruik van Artemia-rassen met kleine nauplii. Het gebruik van bepaalde Artemia-rassen kan zelfs tot gevolg hebben dat de kweek van specifieke predatoren die de grote nauplii niet kunnen opnemen, totaal mislukt.

Het individueel gewicht en de individuele energie-inhoud van gedekapsuleerde cysten stijgt met 30 tot meer dan 55 % uit boven de waarden die voor pas ontloken instar I-nauplii kunnen genoteerd worden. Indien een geschikte kweektechnologie voorhanden is, betekent dit dat het gebruik van gedekapsuleerde cysten als rechtstreekse voedselbron een belangrijke winst kan opleveren met betrekking tot het cystenverbruik. Bij de overgang van het instar I tot het instar II-III stadium daalt het individueel drooggewicht en de individuele energie-inhoud van de nauplii in functie van het beschouwde ras met 16 tot 39 %. Men heeft er dus alle voordeel bij steeds pas ontloken nauplii te vervoederen aan de predatoren. De stockering der nauplii bij een lage temperatuur (2-4°C) kan dit gewichts- en energieverlies tot een minimum herleiden.

De dekapsulatie der cysten en de inkubatie der cysten in een medium met lage saliniteit resulteren voor sommige geografische rassen in een significante stijging van het individueel drooggewicht der nauplii.

4. De ontluikingskarakteristieken der cysten

Een grondige vergelijkende studie van de ontluikingssnelheid en het ontluikingsrendement van de cysten van diverse geografische oorsprong heeft ons toegelaten de volgende besluiten te formuleren :

- zowel de ontluikingssnelheid als het ontluikingsrendement der cysten verschillen duidelijk van ras tot ras. Geen enkel van beide kenmerken is echter eenduidig rasgebonden. Tussen diverse monsters van eenzelfde ras komen immers aanzienlijke verschillen voor ;
- het ontluikingskriterium wordt beïnvloed door diverse factoren zoals de oogstmethode, de verwerkingstechniek en de stockeringstechniek ;
- stockering der cysten in lucht, onder zuurstof of in een NaCl-pekeloplossing veroorzaakt een daling van de ontluikbaarheid en van de ontluikingssnelheid der cysten ;

- de lichtsterkte blijkt een belangrijke invloed uit te oefenen op de ontluikingsnelheid der cysten. Deze invloed verschilt van ras tot ras. Een optimale ontluikingsnelheid kan bekomen worden bij een lichtsterkte van af 1000 lux.

In het licht van de optimalisatie van het gebruik van Artemia-cysten werden diverse technieken bestudeerd om de ontluikingskarakteristieken te verbeteren :

- het drogen van Artemia-cysten kan sterk geoptimaliseerd worden door toepassing van de "fluidized bed"-techniek, waarbij de cysten in een continue luchtstroom snel gedroogd worden (1 à 2 uur); deze droogtechniek garandeert een optimale ontluikingskwaliteit ;
- de dekapsulatie der cysten leidt voor diverse rassen tot een significante stijging van het ontluikingsrendement ;
- de inkubatie der cysten in een 5 %-medium in plaats van een 35 %-medium resulteert eveneens voor diverse Artemia-rassen in een significante stijging van de ontluikbaarheid der cysten ; voor de vooraf gedekapsuleerde cysten is dit echter niet het geval wat wellicht te wijten is aan het feit dat deze cysten te vroeg het "breaking"-stadium bereiken en afsterven ;
- de optimale ontluikingstemperatuur bedraagt voor een 10-tal bestudeerde rassen 25 à 30 °C : de temperatuurtolerantie voor wat het ontluikingskriterium betreft blijkt echter te verschillen tussen de diverse rassen en "sibling species"; de rassen behorend tot het Artemia franciscana "sibling species" vertonen de hoogste tolerantie ; de parthenogenetische rassen (Artemia parthenogenetica) en vooral de Artemia tunisiana-rassen gedijen slecht bij hoge ontluikingstemperaturen ;
- de stockering van gedekapsuleerde cysten volgens de traditionele methode, namelijk in een verzadigde NaCl-oplossing, heeft na enkele maanden een verminderde ontluikbaarheid tot gevolg, wat te wijten is aan het te hoog watergehalte van de cysten ($\pm 20\%$). De nieuwe uitgeteste methode, namelijk de stockering der cysten in een verzadigde oplossing van $MgCl_2$ of van LiCl elimineert dit probleem. Wij zijn er tevens in geslaagd gedekapsuleerde cysten te drogen zonder dat ze in groepjes aan elkaar blijven kleven. Gedroogde gedekapsuleerde cysten kunnen bewaard worden volgens de konventionele methoden die toegepast worden voor niet behandelde cysten en een maximale ontluikbaarheid behouden gedurende minstens 18 maanden.

Tenslotte werd een nieuw criterium voorgesteld voor de evaluatie van de ontluikingskwaliteit van cystenmonsters. Dit criterium, de ontluikingsopbrengst, dat rekening houdt met de ontluikbaarheid der cysten en het individueel gewicht der nauplii, drukt de naupliusbiomassa uit (in mg drooggewicht) die geproduceerd wordt door 1 g cystenmateriaal.

5. De overleving en stockering van pas ontloken nauplii

- de leefbaarheid (uitgedrukt als LT50) van niet gevoede Artemia-nauplii varieert in functie van het beschouwde ras van 73 tot 177 h bij 20°C en van 42 tot 84 h bij 30°C ;
- de leefbaarheid der nauplii blijkt enigszins gekorreleerd te zijn met hun energie-inhoud, hoewel ook nog andere factoren zoals de chemische samenstelling van het water van hun biotoop een rol spelen ;
- in zoetwater kunnen de nauplii gedurende enkele uren actief blijven en ongeveer 1 dag in leven blijven ; ook hier komen echter ruime rasverschillen voor ;
- praktisch gezien blijkt de stockering van de pas ontloken nauplii in hoge densiteiten bij lage temperatuur (2-4°C) een aanzienlijke tijdwinst te kunnen opleveren bij het gebruik van Artemia als voedselbron in de aquakultuur ; de nauplii kunnen op die manier gedurende 24 tot 48 h gestockeerd worden zonder noemenswaardige mortaliteit en het gewichtsverlies is alvast gedurende de eerste 24 h verwaarloosbaar ; deze techniek is echter niet voor alle Artemia-rassen bruikbaar ; zo sterven Chaplin Lake-en Buenos Aires-nauplii vrij vlug af bij bewaring in een koelkast.

6. De groeisnelheid der nauplii van diverse geografische oorsprong

Twee gestandaardiseerde testen werden uitgewerkt om de groeisnelheid van de nauplii der diverse Artemia-rassen te vergelijken. De voedingsbronnen waren respectievelijk het groenwier Dunaliella en het inerte rijstvoerschroot. De resultaten van deze groeiproeven die onder konstante kondities (25°C, 35 ‰, duisternis) uitgevoerd werden, hebben ons toegelaten de volgende besluiten te formuleren :

- verschillende Artemia-rassen hebben een significant hogere groeisnelheid dan het San Francisco-Bay referentieras ;

- de relatieve groeisnelheid van de nauplii van diverse geografische oorsprong blijft vrijwel konstant onafhankelijk van de gebruikte voedselbron, wat inhoudt dat de resultaten bekomen met de zeer eenvoudige voedingsproef met wieren kunnen geëxtrapoleerd worden tot een inerte voedingsbron ;
- de groeisnelheid van de larven blijkt een rasgebonden kenmerk te zijn, dat identiek blijft voor diverse monsters van eenzelfde ras of voor nauplii ontloken uit cysten van eenzelfde ras geproduceerd op verschillende plaatsen ;
- de variatie in groeisnelheid is nochtans even groot tussen diverse rassen van eenzelfde "sibling species" als tussen de diverse "sibling species" zelf ;
- voor wat het praktisch gebruik van Artemia in de aquakultuur betreft leveren de resultaten waardevolle informatie op voor de selectie van specifieke rassen voor intensieve kweek en voor produktie van Artemia - biomassa ;
- de rassen die op basis van hun groeisnelheid zeker de voorkeur genieten zijn : Great Salt Lake, Manaure, Chaplin Lake, Buenos Aires, Galera Zamba en Bahia Salinas.

7. De invloed van temperatuur en saliniteit op overleving en produktie

De resultaten van de faktoriële standaardproef waarbij de gekombineerde invloed van temperatuur en saliniteit op de overleving van Artemia-larven van diverse geografische oorsprong werd nagegaan, de verdere studie van de tolerantie aan hoge temperaturen en de studie van de produktie in functie van de temperatuur laten ons toe te besluiten dat :

- op uitzondering van het ras van Chaplin Lake alle onderzochte rassen een hoge tolerantie bezitten ten opzichte van de temperatuur en saliniteit en over een gemeenschappelijk preferentiegebied beschikken ;
- duidelijke verschillen tussen de rassen kunnen genoteerd worden, vooral met betrekking tot hun tolerantie ten opzichte van lage saliniteiten en hoge temperaturen ;
- duidelijke aanwijzingen voorhanden zijn die wijzen op een genetische differentiatie tussen en binnen de "sibling species" ; de Artemia tunisiana-rassen vertonen de geringste temperatuurtolerantie ; bij

- de parthenogenetische rassen neemt deze toe bij een hogere ploïdie ;
- een adaptatie aan hogere temperaturen in beperkte mate optreedt ; deze capaciteit om hogere temperaturen te tolereren erfelijk is ;
 - de nauplii van Artemia zeer goed een drastische wijziging in temperatuur en saliniteit kunnen verdragen ; deze capaciteit neemt af naarmate de nauplii ouder worden en is niet voor alle Artemia-rassen even groot ;
 - het optimale temperatuurinterval voor de biomassaproductie verschilt van ras tot ras.

Voor de praktijk vormen de bekomen resultaten een belangrijke leidraad voor:

- de selectie van specifieke rassen voor produktiedoeleinden onder diverse temperatuurkondities ;
- de keuze van de optimale kweektemperatuur voor elk ras ;
- de selectie van rassen voor inokulatiedoeleinden in tropische of subtropische gebieden.

8. De nutritionele geschiktheid van Artemia-nauplii

De resultaten van de nutritionele studies uitgevoerd in het kader van de "International Study on Artemia", hebben aan het licht gebracht dat de nutritionele geschiktheid der Artemia-nauplii verschilt naargelang hun geografische oorsprong. Hoewel de meeste rassen, zoals San Francisco Bay, Macau, Shark Bay, Tientsin, Lavalduc en Margherita di Savoia in praktisch alle gevallen een goede groei en overleving verzekeren, kan het gebruik van sommige rassen slechte groei en overleving van de kweekdieren voor gevolg hebben : San Pablo Bay-nauplii blijken enkel voor karperlarven een geschikt dieet te vormen, terwijl het gebruik van Great Salt Lake-nauplii tot grote mortaliteiten leidt bij een 3-tal predatoren die een metamorfose doormaken tijdens hun larvale ontwikkeling ; de vervoeding van Chaplin Lake-nauplii heeft tenslotte in de meeste gevallen een vertraagde groei voor gevolg.

De nutritionele waarde der nauplii blijkt niet rasspecifiek te zijn ; er zijn immers duidelijke indicaties dat de voedende waarde der nauplii van bepaalde geografische oorsprong kan variëren in functie van de oogstplaats, tijdelijke en/of plaatselijke contaminatie of veranderingen van het voedselaanbod in het biotoop. Bovendien dient erop gewezen dat de konsument niet steeds kan vertrouwen op de door de cystenverdelers verstrekte gegevens in verband met de herkomst van het cystemonster.

De nutritionele geschiktheid van een specifiek Artemia-ras is afhankelijk van de soort predator. Dit is te wijten aan predator-afhankelijke verschillen in gedragspatroon, voedselopnamemechanisme en voedselbehoeften.

De volgende gegevens en indicaties kunnen naar voor gebracht worden met betrekking tot de oorzaken van het falen van sommige Artemia-rassen als voedselbron :

- de slechte resultaten met het San Pablo Bay-ras zijn te wijten aan de deficiëntie van langketen poly-onverzadigde vetzuren van het type 20:5 ω 3 en 22:6 ω 3 ; dit is ook in mindere mate het geval voor de Great Salt Lake-nauplii ;
- er zijn aanwijzingen dat het relatief hoog gehalte aan Cu in Great Salt Lake-nauplii mede verantwoordelijk zou zijn voor de minder goede resultaten die in sommige gevallen met dit ras bekomen werden ; verdere bevestiging is hier echter nodig ;
- er is een duidelijke korrelatie tussen de grootte der nauplii en de overleving der jongste larvale stadia van predatoren waarvoor de afmetingen der nauplii kritisch zijn voor de voedselopname ;
- er is een duidelijke korrelatie tussen de afmetingen of het gewicht der nauplii en de gewichtstoename van predatoren waarvoor de afmetingen der nauplii niet interfereren met het opnamemechanisme ;
- er bestaat geen rechtstreeks verband tussen de aminozuursamenstelling, en de concentratie aan gechloreerde koolwaterstoffen en de nutritionele waarde der nauplii.

Tot slot van deze verhandeling menen wij te mogen besluiten dat deze studie, die een tot nog toe vrijwel onontgonnen gebied inzake Artemia-onderzoek geëxploreerd heeft, verre van beëindigd is. De rassen-karakterisatie zou moeten uitgebreid worden tot de studie van de adulte dieren (manier van voortplanting, kwalitatieve en kwantitatieve reproductie) ten einde de volledige levenscyclus van het pekelkreeftje te omvatten. In de tweede plaats moet het vergelijkend onderzoek verruimd worden tot de verder karakterisatie van de talrijke reeds gekende en momenteel nog onbekende Artemia-rassen. Dit zou ongetwijfeld moeten leiden tot de ontdekking van rassen met bijzondere kenmerken die ze zeer geschikt maken voor specifieke toepassingsgebieden in de aquakultuur. Tenslotte heeft deze studie de basis gelegd

Voor een totaal nieuw onderzoeksdomein, met name het kwantitatief erfelijkheidsonderzoek. Denken wij hierbij maar aan het belang voor de aquakultuur van Artemia-rassen die mini-cysten produceren, zeer goed hoge temperaturen tolereren, en een hoge groeisnelheid kennen.

HOOFDSTUK 15. SAMENVATTING

De groeiende vraag naar Artemia-cysten heeft geresulteerd in de exploitatie van diverse natuurlijke Artemia-biotopen en het gebruik van cysten van verschillende geografische oorsprong voor aquakultuurodoeleinden. De genetische, biologische, fysiologische en chemische kenmerken van de verschillende Artemia-rassen zijn echter slechts in zeer geringe mate gekend. Om die reden werd een grondige vergelijkende karakterisatiestudie van de diverse geografische rassen van het pekelkreeftje aangevat.

Daartoe werd in de eerste plaats aan de hand van een grondige literatuurstudie een inzicht verworven in :

- de geografische distributie van Artemia, de parameters die deze distributie bepalen, de distributievektoren en de mogelijkheden van de transplantatie en inokulatie van Artemia;
- de fysische, abiotische en biotische kenmerken van de Artemia-biotopen en de wijze waarop Artemia zich ontwikkelt in deze biotopen en er geëxploiteerd wordt;
- de recente ontwikkelingen in verband met de genetische karakterisatie en de systematische klassifikatie van het genus Artemia

In de tweede plaats werden methoden op punt gesteld en gestandaardiseerd om experimenteel de volgende karakteristieken van de Artemia-rassen te vergelijken :

- de biometrische en energetische kenmerken van cysten en nauplii;
- het ontluikingsrendement en de ontluikingssnelheid van cysten;
- de leefbaarheid der nauplii in media met verschillende saliniteit en temperatuur;
- de groeisnelheid der nauplii met 2 verschillende voedsels;
- de voorkeur en tolerantie van de larven ten opzichte van temperatuur en saliniteit;
- de produktiekenmerken der larven in functie van de temperatuur;
- de nutritionele waarde van de nauplii voor aquakultuurorganismen en de parameters die de nutritionele waarde bepalen of beïnvloeden.

De resultaten van deze studies hebben een belangrijke bijdrage geleverd tot de fundamentele kennis van de diverse Artemia-rassen. Voor alle bestudeerde kenmerken konden significante verschillen tussen de bestudeerde rassen gennoteerd worden. De kausale factoren voor deze verschillen bleken echter te variëren in functie van het bestudeerde kenmerk :

- de biometrische kenmerken der cysten en nauplii zijn hoofdzakelijk rasspecifiek en worden slechts in zeer beperkte mate beïnvloed door de abiotische en biotische kondities waaronder de cysten geproduceerd worden ;
- de groeisnelheid der nauplii is in hoofdzaak rasgebonden ;
- de temperatuur- en saliniteitstolerantie kan in verband gebracht worden met de onderverdeling in "sibling species"; genetische adaptatie blijkt hier echter mogelijk ;
- de temperatuurtolerantie met betrekking tot de ontluiking blijkt gekorreleerd met de genetische klassifikatie der rassen in "sibling species" ;
- de nutritionele geschiktheid lijkt enigszins rasgebonden in functie van het geheel van abiotische en biotische karakteristieken van het milieu waarin de cysten geproduceerd worden ; de nutritionele waarde is afhankelijk van diverse parameters, vooral de biometrische kenmerken en de vetzuursamenstelling der nauplii ; zij is echter niet genetisch bepaald ;
- het ontluikingsrendement en de ontluikingssnelheid is vooral afhankelijk van de voorgeschiedenis der cysten, de oogstmethode, de verwerkingstechniek en de stockeringsmethode ; eventuele genetische invloeden worden volledig gemaskeerd door de procedure volgens dewelke de cysten behandeld zijn ;
- het energieverbruik tijdens de ontluiking en de vroege larvale ontwikkeling van Artemia kan niet gekorreleerd worden met de genetische onderverdeling van Artemia ; er blijkt wel een verband te zijn met de ionensamenstelling van het biotoop.

De gegevens van de karakterisatiestudie hebben eveneens belangrijke mogelijkheden opgeleverd voor het praktisch gebruik van de diverse Artemia-rassen in de aquakultuur :

- aan de hand van de biometrische kenmerken kan met vrij grote zekerheid de geografische oorsprong van een onbekend cystenmonster achterhaald worden en kan commerciële fraude opgespoord worden ;
- uitgaande van de biometrische kenmerken der cysten kunnen vrij nauwkeurig de afmetingen en het gewicht der nauplii bepaald worden ;
- het belang van het gebruik van pas ontloken nauplii als voedselbron in de aquakultuur is voor alle rassen onderstreept ;
- de basis werd gelegd voor de selectie van specifieke Artemia-rassen voor verschillende aquakultuurdoeleinden :
 - rassen met een hoge groeisnelheid
 - temperatuurreistente rassen voor inokulatiedoeleinden
 - geschikte rassen voor produktiedoeleinden bij diversê temperaturen.
- in functie van hun biometrische, energetische en chemische kenmerken kan een gefundeerde rasselektie gemaakt worden voor het gebruik der nauplii als voedselbron in de aquakultuur :
 - voor mariene predatoren : rassen met een hoog gehalte aan het vetzuur 20:5 ω 3
 - voor zoetwater predatoren : alle rassen
 - voor predatoren met grote larven : rassen die grote nauplii produceren
 - voor predatoren met kleine larven : rassen die kleine nauplii produceren.

Tenslotte werden in het kader van deze vergelijkende studie methoden op punt gesteld en criteria vastgelegd met het oog op de verbetering van het gebruik van Artemia in de aquakultuur :

- de ontluikingsopbrengst van de cysten van verschillende geografische rassen kan verbeterd worden door dekapsulatie der cysten of inkubatie der cysten in een medium met lage saliniteit ;
- het gebruik van een "fluidized bed"-droger garandeert een snelle droging met een optimale ontluikbaarheid der cysten ;
- de stockering der cysten onder stikstof of vacuüm houdt de ontluikbaarheid gedurende jaren optimaal ;
- de stockering van gedekapsuleerde cysten in een verzadigde $MgCl_2$ -oplossing is een beter alternatief voor de stockering in een verzadigde NaCl-oplossing ;
- de ontluikingsopbrengst is het meest doeltreffende criterium om de

ontluikingskwaliteit van diverse cystenmonsters te vergelijken;

- door stockering bij 2-4°C kunnen de nauplii van verschillende geografische rassen gedurende minstens 24 h bewaard worden zonder mortaliteit en gewichtsverlies;
- een lichtintensiteit van minstens 1000 lux is nodig om voor alle rassen een optimaal ontluikingsrendement te bekomen;
- de optimale ontluikingstemperatuur is voor alle rassen begrepen tussen 25 en 30°C.

LITERATUURLIJST

- Ablett, R.F.; R.H. Richards-1980
Suitability of twenty-four-hour and forty-eight-hour unfed Artemia as an early foodstuff for 'O'group Dover sole (Solea solea L.) production.
Aquaculture, 19(4):371-378
- Abonyi, A.-1915
Experimentelle Daten zum Erkennen der Artemia-Gattung.
Z.wiss.Zool., 114:95-168
- Abreu-Grobois, F.A.; J.A. Beardmore-1980
International Study on Artemia. II. Genetic characterization of Artemia populations-an electrophoretic approach:133-146.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.
- Abreu-Grobois, F.A.; J.A. Beardmore-1982
Genetic differentiation and speciation in the brine shrimp Artemia:345-376
In: Mechanisms of Speciation, Alan. Liss. Inc., New York (USA)
- Achari, G.P.K.-1971
Occurrence of the brine shrimp Artemia salina, in Karsewar island off Tuticorin, Gulf of Marmar.
Indian J.Fish., 18:196
- Akhorov F.; F.A. Oleynikova-1976
Material to the study of Artemia salina from the Sasykul Lake (Pamir).
Biological basis of fisheries in water bodies of Middle Asia and Kazakhstan. Materials of 15th Research Conference, Dushanbe:43-45
- Alderdice, D.F.-1972
Factor combinations. Responses of marine poikilotherms to environmental factors acting in concert:1659-1722
In: Marine Ecology, 1(3). Ed. Kinne, O., Wiley Interscience, London, 1774 pp.
- Al-Uthman, H.S.-1971
Ecological observations on Artemia salina (L.) (Anostraca: Artemiida) in Iraq.
Bulletin of the Biological Research Centre, 5:49-65
- Amat Domenech, F.-1979
Diferenciación y distribución de las poblaciones de Artemia (Crustaceo Branquiopodo) de España.
Thesis, University of Barcelona (Spain), 251pp.

- Amat Domenech, F.-1980
Differentiation in Artemia strains from Spain:19-40
In:The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics,
Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A.
Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium):345 pp.
- Amat Domenech, F.-1982
Zygogenetical and parthenogenetical Artemia in the Cadiz sea
side salterns.
Paper presented at the International Symposium on Coastal
Lagoons, 8-14 sept. 1982, Bordeaux (France)
- Anderson, E.;J.H. Lochhead;M.S. Lochhead;E. Huebner-1970
The origin and structure of the tertiary envelope in thick-
shelled eggs of the brine shrimp, Artemia.
J. Ultrastruct.Res.,32:497-525.
- Anderson, G.C.-1958 a
Seasonal characteristics of two saline lakes in Washington.
Limnol. Oceanogr.,3:51-68
- Anderson, G.C.-1958 b
Some limnological features of a shallow saline meromictic
lake.
Limnol. Oceanogr.,3:259-270.
- Anoniem-1964
Okayama Preference Fisheries Institute Report, 9 pp.
- Anoniem-1979
Mono Lake:Paradise In Peril.
Position Paper of the Mono Lake Committee, Oakland (U.S.A),
22 pp.
- Artom, C.-1905
Osservazioni generali sull'Artemia salina Leach delle saline
di Cagliari.
Zool.Anz.,29(9):284-291.
- Artom, C.-1906
Ricerche sperimentali sul modo di riprodursi dell'Artemia
salina Lin. di Cagliari.
Biol.Zbl.,26(1):26-32.
- Artom, C.-1911
La sistematica del genere Artemia in relazione col numero dei
cromosomi delle cellule sessuali e in relazione col numero e
colla grandezza delle cellule somatiche.
Biol.Zbl.,31(4):104-108
- Artom, C.-1920
Nuovi fatti e nuovi problemi sulla biologia e sulla sistematica
del genere Artemia. Nota III.
Atti Accad.naz.Lincei Rc.,29(2,1-2):65-68

- Artom, C.-1921
Specie micropireniche e macropireniche del genere Artemia.
Ric. Morf., 2(1-2):137-155
- Artom, C.-1922
Nuovi dati sulla distribuzione geografica e sulla biologia delle due specie (micropirenica e macropirenica) del genere Artemia.
Atti Accad.naz.Lincei Rc., 31:529-532
- Artom, C.-1923
Nouveaux faits et nouveaux problemes sur la biologie et sur la systematique du genre d'Artemia.
Annls Biol., 27:140
- Artom, C.-1931
L'origine e l'evoluzione della partenogenesi attraverso i differenti biotipi di una specie collettiva (Artemia salina L.) con speciale riferimento al biotipo diploide partenogenetico di Sete.
Memorie R.Accad.Ital., 2(1):1-57
- ASEAN-1977
First Asean Meeting of Experts on Aquaculture. Technical Report.
Asean, Semarang (Indonesia), Jan.31-Feb.6, 1977: 234 pp.
- Aspin, A.A.-1949
Tables for use in comparisons whose accuracy involves two variances separately estimated.
Biometrika, 36:290-296.
- Baas-Becking, L.G.M.-1931
Historical notes on salt and salt manufacturing.
Scient.Mon., N.Y., 32:434-446
- Bagatova; I.B.; E.E. Goussev; Z.I. Schmakova-1979
Biological grounds for mass obtaining of Artemia salina L. nauplii from diapausing eggs.
Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symp. Aquaculture, Sept.1978, Tokyo (Japan).
- Baid, I.C.-1958
Occurrence of Artemia salina in Sambhar Lake, Rajasthan.
Curr. Sci., 27(2):58-59
- Baid, I.C.-1965
Experimental studies in the population of Artemia salina L.
Naturwissenschaften, 52(3):68
- Baker, M.J.-1966
Autecology of Artemia: Factors influencing hemoglobin synthesis and cyst production.
Thesis, San Francisco State College (U.S.A.), 117 pp.
- Bardach, J.E.; J.H. Ryther; W.O. McLarney-1972
Aquaculture: the farming and husbandry of freshwater and marine organisms.
Wiley-Interscience, New York (U.S.A.), 868 pp.

Barigozzi, C.-1939

La biologia di Artemia salina Leach studiata in aquario (Morfologia e velocità di sviluppo).

Atti Soc.ital.Sci.nat.,78(2):137-160

Barigozzi, C.-1946

Über die geographische Verbreitung der Mutanten von Artemia salina Leach.

Arch.Julius Klaus-Stift.,21:479-482

Barigozzi, C.-1957

Differentiation des genotypes et distribution géographique d'Artemia salina Leach: Données et problèmes.

Annls Biol.,33(5-6):241-250

Barigozzi, C.-1972

Problems of speciation in the genus Artemia: 61-66.

In: Proc.5th European Marine Biology Symposium; Ed. Battaglia, B.; Piccin Editore, Padova (Italy), 348 pp.

Barigozzi, C.-1974

Artemia: A survey of its significance in genetic problems: 221-252.

In: Evolutionary Biology, Volume 7; Eds Dobzhansky, T.; M.K. Hecht;W.C. Steere; Plenum Press, New York (U.S.A.), 314 pp.

Barigozzi, C.-1980

Genus Artemia: Problems of systematics: 147-154.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.

Barigozzi, C.;M. Tosi-1959

New data on tetraploidy of amphigonic Artemia salina Leach and on triploids resulting from crosses between tetraploids and diploids.

Atti Ass.genet.ital.,Ric.Sci. Suppl.,29:129-132

Barker-Jorgensen, C.-1966

Biology of suspension feeding.

International Series of monographs in pure and applied biology. Division: Zoology. Vol.27. Ed. Kerkut, G.A.; Pergamon Press, Oxford, 357 pp.

Barnes, R.S.K.-1980

Coastal lagoons - the natural history of a neglected habitat.

Cambridge University Press (Great Britain), 104 pp.

Bauld, J.-1981

Occurrence of benthic microbial mats in saline lakes.

Hydrobiologia, 81-82:87-112

Bayly, I.A.E.-1972

Salinity tolerance and osmotic behavior of animals in athalassic saline and marine hypersaline waters: 233-268.

In: Annual review of ecology and systematics. Vol.3; Ed. Johnston, R.F.; Annual Reviews Inc., Palo Alto, (CA-U.S.A.).

Beadle, L.C.-1974

The inland waters of tropical Africa.

Longman, London.

Beck, A.D.;D.A. Bengtson;W.H. Howell-1980

International Study on Artemia. V. Nutritional value of five geographical strains of Artemia: effects on survival and growth of larval Atlantic silverside, Menidia menidia: 249-259. In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels,E. Jaspers; Universa Press (Wetteren), Belgium, 456 pp.

Beck; A.D.;D.A. Bengtson-1981

International Study on Artemia. XXII. Nutrition in aquatic toxicology: diet quality of geographical strains of the brine shrimp Artemia:139-147

In: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: 5th Conf.

Eds. Pearson, J.G.; Forster, R.B.; Bishop, W.E.

Amer. Soc. for Test. and Mat., ASTM STP 766, Philadelphia, USA.

Belk, D.-1972

The biology and ecology of Eulimnadia antlei Mackin (Conchostraca).

S West.Nat.,16(3,4):297-305

Bell, F.W.;E.R. Canterbury-1974

Aquaculture for the developing countries : a feasibility study.

Ballinger Publ. Company, Cambridge (USA), 266pp.

Benijts, F.;G. Vandeputte;P. Sorgeloos-1977

Energetic aspects of the metabolism of hydrated Artemia cysts: 79-87.

In: Fundamental and applied research on the brine shrimp, Artemia salina (L.) in Belgium. EMS Special Publication No. 2. Eds Jaspers, E.;G. Persoone. Institute for Marine Scientific Research, Bredene

Benijts, F.;E. Vanvoorden;P. Sorgeloos-1976

Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, Artemia salina L.: 1-9.

In: Proc. 10th European Symposium on Marine Biology. Vol.1. Eds Persoone, G.;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 620 pp.

Blanquet, Y.;H. Planel;H.G. Gregoriev;G. Gasset;V.A. Benevolensky; M. Delpoux;C. Jacquot;V.J. Popov;B. Pianezzi;A.M. Marenny-1977

Preliminary results of the Biobloc experiment on the Cosmos 782 flight: effects of cosmic rays on brine shrimp eggs and tobacco seeds: 165-168.

In: Cospar, Life Sciences and Space Research, volume 15.

Eds Holmquist, R.;A.C. Stickland; Pergamon Press, Oxford & New

Blust, R.-1981

Het voorkomen van Fe, Cu en Cd in Artemia salina L.

Thesis, Rijksuniversitair Centrum Antwerpen, 55 pp.

Bluthgen, J.-1964

Allgemeine Klimageographie.

Walter De Gruyter en Co. Berlin.

- Boerman, W.E.-1949
Klimaat
Noordduyn's wetenschappelijke reeks no. 25.
J. Noordduyn en zoon N.V. Gorinchem, 258 pp.
- Bohra, O.P.-1980
A note on Artemia culture from a local strain : 131
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Bond, R.M.-1933
Observations on Artemia "franciscana" Kellogg especially on the relation of the environment to morphology.
Int.Revue ges.Hydrobiol.Hydrogr.,28(1/2):117-125
- Bookhout, C.G.;J.D. Costlow, jr.-1970
Nutritional effects of Artemia from different locations on larval development of crabs.
Helgolander wiss.Meeresunters.,20:435-442
- Boone, E.;L.G.M. Baas-Becking-1931
Salt effects on eggs and nauplii of Artemia salina L.
J.gen.Physiol.,14:753-763
- Bossier, P.-1981
Invloed van de kweektemperatuur op de produktieëigenschappen van verschillende Artemia rassen.
Thesis, Rijksuniversiteit Gent, 76 pp.
- Bossuyt, E.;P.Sorgeloos-1980
Technological aspects of the batch culturing of Artemia in high densities:133-152.
In: The brine shrimp Artemia. Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Boulton, A.P.;A.K. Huggins-1977
Biochemical changes occurring during morphogenesis of the brine shrimp Artemia salina and the effect of alterations in salinity.
Comp.Biochem.Physiol.,57A:17-22
- Bowen, S.T.-1964
The genetics of Artemia salina. IV. Hybridization of wild populations of mutant stocks.
Biol.Bull.,126(3):333-344
- Bowen, S.T.-1965
The genetics of Artemia salina. V. Crossing over between the X and Y chromosomes.
Genetics,52(3):695-710

Bowen, S.T.;M.L. Davis;S.R. Fenster;G.A. Lindwall-1980
Sibling species of Artemia: 155-168.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics,
Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A.
Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.

Bowen, S.T.;J.P. Durkin;G. Sterling;L.S. Clark-1978
Artemia hemoglobins: genetic variation in parthenogenetic
and zygogenetic populations.
Biol.Bull.,155:273-287

Bowen, S.T.;H.G. Leberherz; M.-C. Poon;V.H.S. Chow;T.A.
Crigliatti-1969
The hemoglobins of Artemia salina. I. Determination of pheno-
type by genotype and environment.
Comp.Biochem.Physiol.,31:733-747

Bowen, S.T.;G. Sterling-1978
Esterase and malate dehydrogenase isozyme polymorphisms
in 15 Artemia populations.
Comp.Biochem.Physiol.,61B:593-595

Bowen, S.T.;G. Sterling;J. Barkan-1977
The hemoglobins of Artemia salina. IV. A model for genetic
control of hemoglobin 1, hemoglobin 2 and hemoglobin X.
Biochem.Genet.,15(5-6):409-422

Bradbury, J.P.-1971
Limnology of Zuni Salt Lake, New Mexico.
Bull.Am.Geol.Soc.,82:379-398

Brisset, P.;D. Versichele;E. Bossuyt;L. De Ruyck;
P. Sorgeloos-1982
High density flow-trough culturing of brine shrimp, Artemia
on inert feeds - Preliminary results with a modified culture
system
Aquac. Eng.,1(2):115-121

Broch, E.S.-1969
The osmotic adaptation of the fairy shrimp Branchinecta
campestris Lynch to saline astatic waters.
Limnol. Oceanogr., 14(4):485-492

Brown, L.H.-1958
The breeding of the greater flamingo, Phoenicopterus ruber
at Lake Elmenteita, Kenya Colony
Ibis, 100:388-420

Brown, E.E.;J.B. Gratzek-1980
Fish farming handbook
AVI Publishing Company, Inc., Westport (USA), 391 pp.

Bruggeman, E.; M. Baeza-Mesa; E. Bossuyt; P. Sorgeloos-1980
Improvements in the decapsulation of Artemia cysts: 309-315.
In: Cultivation of fish fry and its live food. EMS Spec. Publ.
No. 4. Eds Styczynska-Jurewicz, E.; T. Backiel; E. Jaspers;
G. Persoone. Institute for Marine Scientific Research, Bredene
(Belgium), 534 pp.

Bruggeman, E.; P. Sorgeloos; P. Vanhaecke-1980
Improvements in the decapsulation technique of Artemia cysts: 261-269.
In: The brine shrimp Artemia. Vol.3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels, E. Jaspers;
Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Bryant, P.L.; A.J. Matty-1980
Optimisation of Artemia feeding rate for carp larvae
(Cyprinus Carpio L.)
Aquaculture, 21:203-212

Burgos, J.J.; A.L. Vidal-1951
The climates of the Argentine Republic according to the new
Thorthwaite classification.
Annals Assoc. Amer. Geogr., XLI(3):237-263

Burton, H.R.-1981
Chemistry, physics and evolution of Antarctic saline lakes:
a review
Hydrobiologia, 81-82:339-362

Campello, A.-1982
Données pratiques sur l'élevage au laboratoire des larves
de Palaemon serratus (Pennant).
Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 39(4):395-405

Cantillo, M.-1978
Desarrollo artificial de los estados larvales del Camaron
de Rio Macrobrachium americanum (Bate 1860).
Universidad del Valle, Departamento de Biología, Colombia,
25 pp.

Carpelan, L.H.-1953
The hydrobiology of Alviso salt ponds.
Thesis, Stanford University (Stanford, CA-U.S.A.), 197 pp.

Carpelan, L.H.-1957
Hydrobiology of the Alviso salt ponds
Ecology, 38(3):375-390

Carter, D.B.-1954
Climates of Africa and India according to Thorthwaite's
1948 classification
Publ. in Climatology, VII(4):454-479

Carter, D.B.; J.R. Mather-1966
Climatic classification for environmental biology.
Publ. in Climatology, XIX(4):456-525

Caspers, A.-1981

On the ecology of hypersaline lagoons on Laysan Atoll and Kauai Island, Hawaii, with special reference to the Laysan Duck, Anes layanensis Rotchild
Hydrobiologia, 81-82:261-270

Caspers, H.-1952

Untersuchungen über die Tierwelt von Meeressalinen an der Bulgarischen Küste des Schwarzen Meeres.
Zool.Anz., 148:243-259

Caspers, H.-1957

Black Sea and Sea of Azov: 801-890.
In: Marine Ecology and Paleoecology. Vol.1. Ed. Hedgpeth, J.W.; Geol.Soc.America, Memoir 67:1296 pp.

Castell, J.D.-1979

Review of lipid requirements of finfish : 59-84
In: Finfish nutrition and fish feed technology. Vol I.
Eds. Halver, J.E.; K.Tiews; Heenemann Verlagsgesellschaft mbH & Co, Berlin (F.R.G.), 593 pp

Castro, T.-1980

Distribucion geografica e importancia de Artemia en Mexico y evaluacion de la poblacion en el sur de la Bahia de Ceuta, Sinatoa, Mexico
Reporte de investigacion, 6, Universidad Autonoma Metropolitana, Mexico : 18 pp.

Chapman, J.-1968

The relative adaptive values of parthenogenesis and zygogenesis.
Thesis, San Francisco State College (U.S.A.), 76 pp.

Clark, L.S.; S.T. Bowen-1976

The genetics of Artemia salina. VII. Reproductive isolation.
J.Hered., 67(6):385-388

Claus, C.; F. Benijts; P. Sorgeloos-1977

Comparative study of different geographical strains of the brine shrimp Artemia salina: 91-105.
In: Fundamental and applied research on the brine shrimp, Artemia salina (L.) in Belgium. EMS Special Publication No. 2. Eds Jaspers, E; G. Persoone. Institute for Marine Scientific Research, Bredene

Claus, C.; F. Benijts; G. Vandeputte; W. Gardner-1979

The biochemical composition of the larvae of two strains of Artemia salina (L.) reared on two different algal foods.
J.exp.mar.Biol.Ecol., 36:171-183

Clegg, J.S.-1962

Free glycerol in dormant cysts of the brine shrimp, Artemia salina, and its disappearance during development.
Biol.Bull., 123:295-301

Clegg, J.S.-1964

The control of emergence and metabolism by external osmotic pressure and the role of free glycerol in developing cysts of Artemia salina.

J.exp.Biol.,41:879-892

Clegg, J.S.-1966

Protein synthesis in the absence of cell division during the development of Artemia salina embryos.

Nature,212:517-519

Clegg, J.S.-1967

Metabolic studies of cryptobiosis in encysted embryos of Artemia salina.

Comp.Biochem.Physiol.,20:801-809

Clegg, J.S.-1974

Interrelationships between water and cellular metabolism in Artemia salina cysts: hydration-dehydration from the liquid and vapor phases.

J.exp.Biol.,61:291-308

Clegg, J.S.-1976 a

Hydration measurements on individual Artemia cysts.

J.exp.Zool.,198 (2):267-272.

Clegg, J.S.-1976 b

Interrelationships between water and metabolism in Artemia cysts. II. Carbohydrates.

Comp.Biochem.Physiol.,53A:83-87

Clegg, J.S.-1978

Interrelations between water and cellular metabolism in Artemia cysts. VIII. Sorption isotherms and derived thermodynamic quantities.

J.biophys.biochem.Cytol.,94 (2):123-138

Clegg, J.S.;J. Cavagnaro-1976

Interrelationships between water and cellular metabolism in Artemia cysts. IV. ATP and cyst hydration.

J.biophys.biochem.Cytol.,88 (2):159-166

Clegg; J.S.;F.P. Conte-1980

A review of the cellular and developmental biology of Artemia: 11-54. In: The brine shrimp Artemia. Vol. 2. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 664 pp.

Clegg. J.S.;A.L. Golub-1969

Protein synthesis in Artemia salina. II. Resumption of RNA and protein synthesis upon cessation of dormancy in the encysted gastrula.

Devl Biol.,19:178-200

Coche, A.G.;G.Bianchi-1979

Present status of mass rearing fry and fingerlings in the Eifac region:7-31. In:Eifac Workshop on mass rearing of fry and fingerlings of freshwater fishes, Technical paper no 35, Suppl.1. Eds. Huisman, E.A.;H. Hogendoorn, Ministry of Agriculture and Fisheries, The Hague (The Netherlands), 202 pp.

Cole, G.A.;R.J. Brown-1967

The chemistry of Artemia habitats.

Ecology,48(5):858-861

Cole, G.A.;M.C. Whiteside-1965a

Kiatuthlanna, a limnological appraisal. I. Physical factors Plateau, 38(1):6-16

Cole, G.A.;M.C. Whiteside-1965 b

Kiatuthlanna, a limnological appraisal. II. Chemical factors and biota.

Plateau, 38(2):36-48

Colla, A.S.;L. Sailmain;L. Delgado-1961

Sobre la germinacion de los huevos de Artemia salina Var. Milhausenii de la salina de Hidalgo.

Arch.Cienc.Biol.natur.,4-5:187-202

Collins, N.C.-1977

Ecological studies of terminal lakes-their relevance to problems in limnology and population biology: 411-420.

In: "Desert Terminal Lakes": Proceedings international conference on desertic terminal lakes. Ed. Greer, D.C.;

Utah water research Laboratory, Logan, Utah (U.S.A.), 436 pp.

Collins, N.C.-1978

The ecological significance of egg size differences among brine shrimp (Artemia salina) populations.

Bull.ecol.Soc.Am.,59(2):57

Collins, N.C.-1980

Comparison of Artemia strains: survival and growth of nauplii as a function of ionic composition, osmosity, and temperature of the medium : 123.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 664 pp.

Conte, F.P.;P.C. Droukas;R.D. Ewing-1977

Development of sodium regulation and de novo synthesis of Na+K-activated ATPase in larval brine shrimp Artemia salina.

J.exp.Zool.,202(3):339-361

Cooney, J.D.;C.W. Gehrs-1980

The relation between egg size and naupliar size in the calanoid copepod Diaptomus Clavipes Schacht

Limnol. Oceanogr., 25(3):549-552

- Cottarelli, V.;G. Mura-1974
Su alcuni Anostraci della furchia asiatica (Crustacea, Phyllopoda).
Fragmenta Entomologica,10(1):39-51
- Coulter Electronics Ltd.-1973
Introduction manual for coulter channelyzer C-1000.
Coulter Electronics Limited, Bedfordshire, England, 37 pp.
- Crisp, D.J.-1971
Energy Flow measurements:197-279
In:I.B.P. Handbook no. 16:Methods for the study of marine benthos. Eds. Holme, N.A.;A. MacIntyre;D. Blackwell.
Scientific Publications. Oxford:344pp.
- Croghan, P.C.-1958 a
The osmotic and ionic regulation of Artemia salina (L.).
J.exp.Biol.,35(1):219-233
- Croghan, P.C.-1958 b
The survival of Artemia salina (L.) in various media.
J.exp.Biol.,35(1):213-218
- Cronin, E.A.;F.J. Post-1977
Report of a dematiaceous hyphomycete from the Great Salt Lake, Utah.
Mycologia,64(4):846-847
- Crowe, J.H.-1971
Anhydrobiosis: an unsolved problem.
Am.Nat.,105:563-574
- Crowe, J.H.;J.S. Clegg-1973
Anhydrobiosis.
Dowden, Hutchinson and Ross, Inc., Stroudsburg (U.S.A.), 477 pp.
- Cummins, K.W.;J.C. Wuycheck-1971
Caloric equivalents for investigations in ecological energetics.
In:Ver. Theor. Angew. Limnol.,18:1-158
- Czeczuga, B.-1980
Carotenoid content of Artemia eggs and vitality of the young specimens of this crustacean: 607
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 2. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 664 pp.
- da Costa, P.-1972
Nota sobre a ocorrencia e biologia de Artemia salina (L) na regioao de Cabo Frio (RJ).
Secao de Publicacoes do Instituto de Pesquisas da Marinha, Rio de Janeiro, Brasil,no.66:14pp

da Costa, P.F.;E.M. Vergara-1980

Observations on the biology of Artemia salina in the Cabo Frio region (RJ,Brasil). I.Possibilities of production of cysts : 43.

In: Book of Abstracts. International Symposium on the Brine Shrimp, Artemia salina, Corpus Christi (TX-U.S.A.), Aug.20-23, 1979; Artemia Reference Center, Ghent (Belgium), 137 pp.

Daday de Dees, E.-1910

Monographie systematique des Phyllopoetes Anostraces.

Annls Sci.nat.Zool.,11:91-492

Dagg, M.S.;J.L. Littlepage-1972

Relationships between growth rate and RNA, DNA, protein and dry weight in Artemia salina and Euchaeta elongata.

Mar.Biol.,17:162-170

D'Agostino, A.S.-1965

Comparative studies of Artemia salina (Development and Physiology).

Thesis, New York University (U.S.A.), 83 pp.; University Microfilms, 66-5653

D'Agostino, A.S.-1978

Christmas Island

UNDP Report, 15 pp

D'Agostino, A.S.;L. Provasoli-1968

Effects of salinity and nutrients on mono- and diaxenic cultures of two strains of Artemia salina.

Biol.Bull.,134(1):1-14

D'Agostino, A.S.;W.Yep-1977

An evaluation of brine shrimp operation on Christmas Island. United Nations Development Advisory team (UNDAT) for the South Pacific, Suva;Fiji:21 pp

Dana, G.L.-1981

Comparative population ecology of the brine shrimp Artemia
Thesis, San Francisco State University (USA) : 125 pp

Davis, J.S.-1978

Biological communities of a nutrient enriched salina.

Aquatic Botany,4:23-42

Davis, J.S.-1980

Experiences with Artemia at solar saltworks:51-55

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

- de Chaffoy, D.;G. De Maeyer-Criel;M. Kondo-1978
On the permeability and formation of the embryonic cuticle during development in vivo and in vitro of Artemia salina embryos.
Differentiation,12:99-109
- Dees, L.T.-1961
Brine shrimp.
U.S.Department of the Interior.U.S.Fish and Wildlife Service.
Bureau of Commercial Fisheries.Fishery Leaflet,527-1-5
- De Leenheer, L.-1978
Intensieve kweek van mariene mikro-algen met benutting van bio-industriële afval.
Thesis, Rijksuniversiteit Gent (Belgium), 114 pp.
- De los Santos, C.,jr.;P. Sorgeloos;E. Lavina;A. Bernardino-1980
Successful inoculation of Artemia and production of cysts in man-made salterns in the Philippines:159-163.
In:The brine shrimp Artemia. Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456pp.
- Demetropoulos, A.-1977
Annual Report on the Department of Fisheries of the Cyprus Fisheries for the year 1976.
Republic of Cyprus,Ministry of Agriculture and Natural Resources,Department of Fisheries,73pp.
- Dempster, R.-1946a
Notes on brine shrimp eggs.
Aquat.J.,17(3):4-5,12
- Dempster, R.P.-1946 b
Separating brine shrimp eggs.
Aquat.J.,17(5):2-5
- Dempster, R.P.;G.D. Hanna-1956
Preserving Artemia eggs in high vacuum.
Aquat.J.,27(3):112-113
- De Pauw, N.;L. De Leenheer jr.-1979
Mass culturing of marine and freshwater algae on aerated swine manure, 441-473.
In:Cultivation of fish fry and its life food.
Eds. Styczynska-Jurewicz, E.;T. Backiel;E. Jaspers; G. Persoone. European Mariculture Society, Spec. publ. 4, Bredene, (Belgium)
- De Pauw, N.;L. De Leenheer;H. Verlet;M. Dochy-1979
Culturing of marine microscopic algae.
I.C.E.S. CM 1979/F:54.

de Pinho Canelhas, M.H.-1971

Breve noticia sobre a Artemia na lagoa Nhamaiane.

IX Jornadas Silvo Agronomicas, 27 de Setembro-2 de Outubro,
Lourenco Marques, no26, 7 pp.

Dexter, D.M.-1972

Molting and growth in laboratory reared phyllosomes of the
California spiny lobster, Panulirus interruptus.

Calif.Fish Game, 58(2):107-115

Dietrich, G.;K. Kalle-1963

General Oceanography.

Interscience, New York.

Dobbeleir, J.-1977

Vergelijkende studie van enkele geografische rassen van het
pekelkreeftje, Artemia salina (L.).

Thesis, Rijksuniversiteit Gent, 68 pp.

Dobbeleir, J.;N. Adam;E. Bossuyt;E. Bruggeman;P. Sorgeloos-1980

New aspects of the use of inert diets for high density
culturing of brine shrimp: 165-174.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in
Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;E. Jaspers;
Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Dolgopol'skaya, M.A.;L.V. Vladimirov;A.I. Taneeva;

I.S. Mendeleev-1969

Docum.2nd.All-Union Conf.on the Study of the effect of
magnetic fields on biological specimens (in russian), 24-26

Sept.1969, Scientific Council on Complex Problems.

Cybernetics.Akad.Nauk.SSSR,Moscow (U.S.S.R.), 76pp.

Dorst, J.-1962

The migrations of birds.

Windmill Press Ltd., Kingwood (Great Britain)

Dumont, H.J.-1979

Limnologie van Sahara en Sahel: naar een beter begrip van de
klimaatsveranderingen van het laat-Pleistoceen en Holoceen.

Thesis, Rijksuniversiteit Gent (Belgium).

Dutrieu, J.-1960

Observations biochimiques et physiologiques sur le developpement
d'Artemia salina Leach.

Arch.Zool.exp.gen., 99:1-134

Dwivedi, S.N.;S.K.R. Ansari;M.Q. Ahmed-1980

Mass culture of brine shrimp under controlled conditions in
cement pools at Bombay (India):175-183.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456pp.

Dye, J.E.-1980

The production and efficient use of freshly hatched brine shrimp nauplii (Artemia) in the larval rearing of marine fish at the hatcheries of the British White Fish Authority:271-276. In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Eckstein, Y.-1970

Physicochemical limnology and geology of a meromictic pond on the Red Sea shore
Limnol. Oceanogr., 15(3):363-372

Emerson, D.N.-1963

The metabolism of hatching embryos of the brine shrimp Artemia salina.
Proc.S.Dak.Acad.Sci., 42:131-135

Emerson, D.N.-1967

Some aspects of free amino acid metabolism in developing encysted embryos of Artemia salina, the brine shrimp.
Comp.Biochem.Physiol., 20:245-261

Engel, D.W.; J.W. Angelovic-1968

The influence of salinity and temperature upon the respiration of brine shrimp nauplii.
Comp.Biochem.Physiol., 26:749-752

Epifiano, C.E.-1972

Effects of dieldrin-contaminated food on the development of Leptodius floridanus larvae.
Mar. biol., 13:292-297

Eugster, H.P.; L.A. Hardie-1978

Saline lakes: 237-293.

In: Lakes: Chemistry, geology, physics. Ed. Lerman, A.; Springer Verlag, New York (U.S.A.), 363 pp.

FAO-1972

Report on the first session of the ACMR/IABO working-party on aquaculture - Rome, 17-23 May 1972.
FAO Advisory Committee on marine resources research, 7/73/WP. 6:16pp.

Fautrez, J.; N. Fautrez-Firlefyn-1951

A propos de la chromatine et des nucleoles dans la vesicule germinative de l'oocyte de quelques Crustaces.
Biol.Jaarb., 18:27-40

Fischer, G.-1834

Notice sur une nouvelle espece de Branchipus de Latreille.
Bull. Soc. Imp. Sc. Nat. Moscou, 7:452

Fontaine, M.-1977

De la recherche fondamentale a la recherche appliquee dans les marais salants de la presqu'ile guerandaise.
C.r.Colloque Marais salants, 26-28

Forster, J.R.M.;J.F. Wickins-1967
Experiments in the culture of the prawn Palaemon serratus
(Pennant).
ICES-CM E13:9 pp.

Forster, J.R.M.;J.F.Wickins-1972
Prawn culture in the United Kingdom. Its status and potential.
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Laboratory
Leaflet (new series) no.27:32 pp.

Fuchs, J.-1976
Etude comparee de la qualite des oeufs d'Artemia salina
en provenance de Californie et des Salins du Midi.
Raport de stage. Centre Oceanologique de Bretagne, 71 pp.

Fuchs, J.;J. Person-Le Ruyet-1976
Etude comparative des possibilites d'elevage larvaire de
quelques poissons marins avec une nouvelle souche d'Artemia
salina.
ICES-CM E24:9 pp.

Fujimura, T.-1978
Plan for the development of prawn farming in Thailand and
recommendations to increase production of juveniles for
distribution to farmers and for stocking natural areas.
FAO Report THA/75/008/78/WP2,18 pp.

Fujita, S.;T. Watanabe;C. Kitajima-1980
Nutritional quality of Artemia from different localities
as a living feed for marine fish from the viewpoint of
essential fatty acids:277-290.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456

Gallagher, M.;W.D. Brown-1975
Composition of San Francisco Bay brine shrimp (Artemia
salina).
J.agric.Fd Chem.,23(4):630-632

Geddes, M.C.-1975
Does Artemia occur in Australia?
Australian Society of Limnology, Newsletter.

Geddes, M.C.-1976
Seasonal fauna of some ephemeral saline waters in Western
Victoria with particular reference to Parartemia zietziana
Sayce (Crustacea: Anostraca).
Aust.J.mar.Freshwat.Res.,27(1):1-22

Geddes, M.C.-1979
Occurrence of the brine shrimp Artemia (Crustacea: Anostraca)
in Australia.
Crustaceana,36(3):225-228

Geddes, M.C.-1980

The brine shrimps Artemia and Parartemia in Australia:57-66
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Geddes, M.C.-1981

The brine shrimp Artemia and Parartemia.
Hydrobiologia,81:169-179.

Ghannudi, S.A.;M. Tufail-1978

A report on a two-day visit to eight salt-water lakes of
Ramla Az-Zallaf, Fezzan, Libyan Arab Jamahiriya.
Libyan Journal of Science,8(A):69-74

Gibor, A.-1956

Some ecological relationships between phyto- and
zooplankton.
Biol.Bull.,111:230-234

Giddings, G.G.;M.M. Chanley-1980

Developments in mass culture of brine shrimp.
Proc. Conference "Advances in Food Producing Systems for Acid
and Semi-Acid Lands", Kuwait City, April 19-23, 1980; in press.

Gilchrist, B.M.-1954

Haemoglobin in Artemia.
Proc.R.Soc.,Series B,143:136-146

Gilchrist, B.M.-1956

The oxygen consumption of Artemia salina (L.) in different
salinities.
Hydrobiologia,8:54-65

Gilchrist, B.M.-1960

Growth and form of the brine shrimp, Artemia salina (L.).
Proc.zool.Soc.Lond.,134(2):221-235

Gilchrist, B.M.;J. Green-1960

The pigments of Artemia.
Proc.R.Soc.,Series B,152:118-136

Girin, M.-1979

Feeding problems and the technology of rearing marine fish
larvae: 359-366.
In: Finfish nutrition and fishfeed technology. Vol. I. Eds Halver, J.E.
K. Tiews; Heenemann Verlagsgesellschaft mbH, Berlin (F.R.G.), 593 pp.

Glude, J.B.-1978a

The freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii (de Man).
A literature review and analysis of the use of thermal
effluents in the culture of the freshwater prawn.
Glude, J.B. Aquaculture Consultant, Seattle (WA-U.S.A.), 59pp.

Glude, J.B.-1978 b

The marine shrimp Penaeus spp. A literature review and analysis of the use of thermal effluent in the culture of penaeid shrimp.

Glude, J.B. Aquaculture Consultant, Seattle (WA-U.S.A.), 45pp.

Godeluck, B.-1981

Etude comparée des récoltes et traitements des oeufs et de la valeur nutritive d'Artemia salina des salines du Midi (Etang de Lavalduc)

These, Universite Pierre et Marie Curie, Paris, 40 pp.

Goldschmidt, E.-1952

Fluctuation in chromosome number in Artemia salina.

J. Morph., 91(1):111-131

Gophen, M.-1980

Artemia nauplii as a food source for cyclopoids: extrapolation of experimental measurements to the metabolic activities of copepods in Lake Kinneret, Israel: 67-76

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Goy, J.W.; J.D. Costlow-1980

Nutritional effects of Artemia from different geographical strains on larval development of decapod crustaceans.

Amer.zool., 20(4):896

Grosch, D.S.-1962

The survival of Artemia populations in radioactive seawater.

Biol.Bull., 123:302-316

Grosch, D.S.-1973

Reproduction tests: the toxicity for Artemia of derivatives from non-persistent pesticides.

Biol.Bull., 145:340-351

Gatesoupe, F.J.-1982

Nutritional and antibacterial treatments of live food organisms: the influence on survival, growth rate and weaning success of turbot (Scophthalmus maximus)

I.C.E.S. C.M./F:10

Gun'ko, A.F.-1962

Methods of increasing the output of sturgeon hatcheries by controlling the temperature regime during incubation and by using Artemia as food for young sturgeon (in russian).

Tr.Azovsk.Nauchn.Issled Inst.Rybn.Khoz., 5:73-96

Hagmeier, J.-1961

Plankton aequivalente

Riler Meeres Forschung, 17(1):32-47

Halfer-Cervini, A.; M. Piccinelli; T. Prosdocimi-1967

Fenomeni di isolamento genetico in Artemia salina.

Atti Ass.gen.ital., 12:312-327

- Halfer-Cervini, A.M.; M. Piccinelli; T. Prosdocimi; L. Baratelli-Zambruni-1968
Sibling species in Artemia (Crustacea Branchiopoda).
Evolution, 22:373-381
- Hammer, U.T.-1978
The saline lakes of Saskatchewan. III. Chemical characterization.
Int. Revue ges. Hydrobiol., 63 (3):311-335.
- Hammer, U.T.; R.C. Haynes-1978
The saline lakes of Saskatchewan. II. Locale, hydrography and other physical aspects.
Int. Revue ges. Hydrobiol., 63 (2):179-203
- Hammer, U.T.; R.C. Haynes; J.M. Heseltine; S.M. Swanson-1975
The saline lakes of Saskatchewan.
Verh.int.Verein.theor.angew.Limnol., 19:589-598
- Harbeck jr., G.E.-1955
The effect of salinity on evaporation.
Geol. Surv. Prof. Pap. 272 A, 6 pp.
- Haynes, R.C.; U.T. Hammer-1978
The saline lakes of Saskatchewan. IV. Primary production by phytoplankton in selected saline ecosystems.
Int. Revue ges. Hydrobiol., 63 (3):337-351
- Hedgpeth, J.W.-1957
Estuaries and Lagoons. II. Biological aspects.
Mem.geol.Soc.Am., 67 (1):693-729
- Heip, J.; L. Moens; M. Kondo-1978
Effect of concentrations of salt and oxygen on the synthesis of extracellular hemoglobins during development of Artemia salina.
Devl Biol., 63:247-251
- Helfrich, P.-1973
The feasibility of brine shrimp production on Christmas Island.
Sea Grant Technical Report UNIH-SEAGRANT-TR-73-02:173 pp.
- Hempel-Zawitkowska, J.-1967
Natural history of Triops cancriformis (BOSC)
Zoologica-Poloniae 17 (3):173-239
- Hempel-Zawitkowska, J.-1970
The influence of strong ultraviolet radiation on hatchability of Triops cancriformis (BOSC) eggs.
Pol. Arch. Hydrobiol., 17 (30):483-494.

Hempel-Zawitkowska, J.-1971 a
Resistance of eggs of Artemia salina L. to low temperature
Polskie Archwm Hydrobiol., 18(3):287-294

Hempel-Zawitkowska, J.-1971 b
Resistance of eggs of Triops cancriformis (BOSC) to low
temperatures as related to several chosen environmental
factors.
Pol. Arch. Hydrobiol., 18(3):295-302

Hentschel, E.-1968
Die postembryonalen Entwicklungsstadien von Artemia
salina Leach bei verschiedenen Temperaturen (Anostraca,
Crustacea).
Zool.Anz., 180:372-384

Herbst, D.B.; G.L. Dana-1980
Environmental physiology of salt tolerance in an alkaline salt lake
population of Artemia from Mono Lake, California:157-167.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 2. Physiology, Biochemistry,
Molecular Biology. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 664 pp.

Hernandorena, A.-1974
Effects of salinity on nutritional requirements of Artemia
salina.
Biol.Bull., 146(2):238-248

Hernandorena, A.-1975
Metabolic significance in nucleic acid metabolism and protein
Biol.Bull., 148:416-428

Hernandorena, A.-1976
Effects of temperature on the nutritional requirements of
Artemia salina.
Biol.Bull., 151(2):314-321

Hinchcliffe, P.R.; J.P. Riley-1972
The effect of diet on the component fatty-acid composition
of Artemia salina.
J. Mar. Biol. Ass. U.K., 52:203-211

Hinton, H.E.-1954
Resistance of the dry eggs of Artemia salina (L.) to high
temperatures.
Annls Mag.nat.Hist., 7:158-160

Hirata, H.-1975
An introduction to the rearing methods of prawn, Penaeus
japonicus Bate in Japan.
Mem.Fac.Fish.Kagoshima Univ., 24:7-12

Hodgkin, E.P.-1959
The salt lakes of Rottnest Island.
J.Proc.R.Soc.West.Aust., 42:84-85

- Horne, F.R.-1966
The effect of digestive enzymes on the hatchability of Artemia salina eggs.
Trans.Am.Microsc.Soc., 85 (2):271-274
- Horne, F.R.-1974
Phyllopods of some southern high plains salina playas.
SWest.Nat., 18(4):475-479
- Horvath, L. -1979
The rearing of warmwater fish larvae:349-357.
In:Finfish nutrition and fish feed technology. Vol. I.
Eds. Halver, J.E.;K. Tiews, Heenemann Verlagsgesellschaft
tmbH & Co., Berlin (F.R.G.), 593 pp.
- Hudinaga, M.;J. Kittaka-1967
The large-scale production of the young Kuruma prawn,
Penaeus japonicus Bate.
Inform. Bull. Plankt. Japan, Commemorative No. for
Dr. Matsue's 60th birthday, 35-46 pp.
- Huggins, A.K.;A.P. Boulton-1970
The metabolism of trehalose during morphogenesis of the
brine shrimp Artemia salina.
Biochem.J., 117:42p
- Hummelinck, P.W.-1933
Zoologische Ergebnisse einer Reise nach Bonaire, Curacao und
Aruba im Jahre 1930. No.1. Reisebericht.
Zool.Jb., 64(35):289-326
- Hutchinson, G.E.-1957
A treatise on limnology, Vol. I.
John Wiley & sons, New York (USA), 830 pp.
- Hutchinson, G.E.-1967
A treatise on limnology, Vol. II.
John Wiley & sons, New York (USA), 1115 pp.
- Ivanovskij, J.A.;Mitrofanov, J.A.;Chaga, J.L.-1980
Hatching of Artemia nauplii at different temperature and
salinity conditions (in Russian)
Biologija moya, 4:25-31
- Ivleva, I.V.-1969
Branchiopoda:62-95
In:Mass culture of invertebrates. Biology and Methods.
Acad. Sci. of the USSR, All-Union Hydrobiological Society,
Izdatel'stvo "Nauka", Moskva. Translated in english by "Israel
Program for Scientific Translations", Jerusalem (Israel)
1973:148 pp.
- Iwanami, Y.;Y. Arai;N. Nakamura;S. Higuchi-1975
Radioactivity in pollen, seed and eggs soaked in ¹⁴C-acetone
Agr.Biol.Chem., 49:561-562

Iwasaki, T.-1964

Sensitivity of Artemia eggs to the gamma-irradiation.

II. Effect of water content.

J.rad.Res., 5:76-81

Iwasaki, T.-1976

Reproductive patterns of Artemia with special regard to food and temperature.

Zool.Mag., Tokyo, 85(3):229-236

Iwasaki, T.; T. Inada; K. Kawachi, T. Kanai; T. Yamada-1980

Usefulness of Artemia in radiobiology : the effects of 60 MeV protons and of synchrotron orbital radiation on the eggs : 181-188

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers ; Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.

Iwasaki, T.; Y.H. Nakanishi-1966

Viability and radiosensitivity of redesiccated dry eggs of Artemia following hydration (in Japanese).

Zool.Mag., Tokyo 76(3):60-64

James, M.C.-1980

The use of plate separators in continuous mass culture of Artemia salina: 125

In: Abstracts "Symposium on Coastal Aquaculture" (Cochin, India, Jan. 12-18th 1980). The Marine Biological Association of India, Cochin 682 011, India, 196 pp.

Jennings, R.H.; D.M. Whitaker-1941

The effect of salinity upon the rate of excystment of Artemia.

Biol.Bull., 80(2):194-201

Jensen, A.C.-1918

Some observations on Artemia gracilis, the brine shrimp of Great Salt lake.

Biol.Bull., 34(1):18-28

Johns, D.M.; W.J. Berry; S. Mc Lean-1981

International Study on Artemia. XXI. Why are some strains of Artemia better food sources than others? Further nutritional work with larvae of the mud crab, Rhithropanopeus harrisi. Paper presented at the World Mariculture Society.

General Meeting, Seattle (WA-USA), March 8-10, 1981.

Johns, D.M.; W.J. Berry; W. Walton-1981

International Study on Artemia. XVI. Survival, growth and reproductive potential of the mysid, Mysidopsis bahia Molenock fed various geographical collections of the brine shrimp, Artemia.

J.exp.mar.Biol.Ecol., 53: 209-219.

Johns, D.M.; M.E. Peters; A.D. Beck-1978

International Study on Artemia. I. An evaluation of five geographical strains of brine shrimp, Artemia salina as food for larval mud crabs, Rhithropanopeus harrisi.

Am.Zool., 18:585

- Johns, D.M.; M.E. Peters; A.D. Beck-1980
International Study on Artemia. VI. Nutritional value of geographical and temporal strains of Artemia: effects on survival and growth of two species of Brachyuran larvae: 291-304.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Johns, D.M.; W. Walton-1979
International Study on Artemia. X. Effects of food source on survival, growth and reproduction in the mysid, Mysidiopsis bahia.
Am.Zool., 19:906
- Jones, A.G.; C.M. Ewing; M.V. Melvin-1981
Biotechnology of solar saltfields.
Hydrobiologia, 81:391-406.
- Jones, A.J.-1972
An inexpensive apparatus for the large scale hatching of Artemia salina L.
J.Cons.int.Expl.Mer., 34(3):351-356
- Jones, D.A.; A. Kanazawa; K. Ono-1979
Studies on the nutritional requirements of the larval stages of Penaeus japonicus using microencapsulated diets.
Mar. biol., 54:261-267.
- Kanazawa, A.; S. Tokiwa; N. Kayama; N. Hirata-1977
Essential fatty acids in the diet of the prawn. I. Effects of linoleic and linolic acids on growth.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43(9):1111-1114.
- Kentouri, M.; P. Divanach-1982
Differences et similitudes dans la genese des comportements locomoteur et troohique des stades prelarvaires de Sparus auratus, Diplodus vulgaris et Diplodus sargis.
Aquaculture, 27(4):355-376.
- Kerfoot, W.C.-1974
Egg-size cycle of a cladoceran.
Ecology, 55:1259-1270
- Khalaf, A.N.; M.A. Lattif; H.H. Mangalo; M. Salih-1977
A bio-ecological study on the brine shrimp Artemia salina (Anostraca - Branchiopoda) in 2 inland brine temporary ponds in Iraq.
Bull.Biol.Res.Cent. (Baghdad), 8:37-48
- Khalaf, A.N.; M.A. Lattif; Z.R. Zahid-1980
Structure and ultrastructure of the egg shell of Artemia: 97.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.

King, C.E.-1980

The genetic structure of zooplankton populations:315-328
In:Evolution and Ecology of Zooplankton Communities.

Ed. Kerfoot, C.W., The University Press of New England (USA)

Kinne, O (Ed)-1970

Marine Ecology. Vol. I. Environmental factors.

Wiley-Interscience, J. Wiley & sons, London, 681 pp.

Kinne, O (Ed)-1971

Marine Ecology. Vol 1. Environmental factors. Part 2.

John Wiley & sons, New York, 561 pp.

Kinne, O (Ed)-1975

Marine Ecology. Vol. II. Physiological mechanisms. Part 1.

John Wiley & sons, New York (USA), 449 pp.

Kinne, O (Ed)-1977

Marine Ecology. Vol 3. Cultivation. Part 2.

John Wiley & sons, New York, 1293 pp.

Kinne, O.;H. Rosenthal-1977

Cultivation of animals. 5.2. Commercial cultivation
(aquaculture):1321-1398.

In:Marine Ecology. Vol. 3. Cultivation (3). Ed. Kinne, O.;
Wiley & sons, New York.

Klein-MacPhee, G.;W.H. Howell;A.D. Beck-1980

International Study on Artemia. VII. Nutritional value of
five geographical strains of Artemia to winter flounder
Pseudopleuronectes americanus larvae:305-312.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Klein-MacPhee, G.;W.H. Howell;A.D. Beck-1982

Comparison of a reference strain and four geographical strains
of Artemia as food for winter flounder (Pseudopleuronectes
americanus) larvae.

Aquaculture, 29:279-288

Klekowski, R.Z.;J. Hempel-Zawitkowska-1968

The influence of desiccation at different air humidities
on hatchability of Triops cancriformis (Bosc) eggs.

Pol. Arch. Hydrobiol., 15:183-189.

Knight, G.-1974

Some aspects of the productivity of Lake Grassmere,
Marlborough, New Zealand and its possible utilisation.

Thesis, University of Canterbury (New Zealand), 169 pp.

Koppen, W.-1930-1939

Das geografische System der Klimate

In:Handbuch der Klimatologie I-V. Eds. Koppen, W.;R. Geiger,
Berlin.

Kouril, J.-1981

The feeding of carp larvae in warmed water:59-63

In:Topical problems of ichthyology. Czechoslovak Academy of Sciences, Institute of Vertebrate Zoology, Brno (CSSR)

Kouril, J.;J. Matena;O. Skacelova;I. Prikryl-1981

Test feeding of carp early stages with zooplankton and the Ewos 10. Bull VURH Vodnany, 2:15-35

Kristensen, I.;T.M. Hulscher-Emeis-1972

Factors influencing Artemia populations in Antillean salines.

Stud.Fauna Curacao,39:87-111

Kuenen, D.J.-1939

Systematical and physiological notes on the brine shrimp Artemia.

Archs neerl.Zool.,3:365-449

Kuenen, D.J.;L.G.M. Baas-Becking-1938

Historical notes on Artemia salina (L.).

Zool.Meded.,20:222-230

Kulkarni, C.V.-1953

Occurrence of the brine shrimp Artemia sp. in Bombay.

The Journal of the Bombay Natural History Society, Madras,51(4):951-952

Kurata, H.-1967

Note on the brine shrimp eggs (in japanese).

Aquiculture,14(4):205-219

Lal Mohan, R.S.-1980

Size and sex composition of Artemia from the salt water springs of Tuticorin, South India: 81.

In: Book of Abstracts. International Symposium on the Brine Shrimp, Artemia salina, Corpus Christi (TX-U.S.A.), Aug.20-23, 1979; Artemia Reference Center, Ghent (Belgium), 137 pp.

Lamarck, J.B.P.A. de-1818

Histoire naturelle des animaux sans vertebres.

Ed.I, vol.5, 134 pp.

Langbein, W.B.-1961

Salinity and hydrology of closed lakes.

Geol. Surv. Prof. Pap. 412, 18 pp.

Lasserre, P.-1979

Coastal lagoons:sanctuary ecosystems, cradles of culture, targets for economic growth.

Nature and Resources, 15(4):2-21.

Latreille, P.A.-1817

Les Crustaces, les Arachnides et les Insectes.vol.3

Le regne animal, Cuvier, Paris (France), 333 pp.

Lavens, P.-1979

Vergelijkende studie van de energie-inhoud en de groeisnelheid van de nauplii van diverse geografische rassen van Artemia sp. Thesis, Rijksuniversiteit Gent (Belgium), 96 pp.

Lavens, P.-1981

Studie van de invloed van diverse kondities op de kenmerken van ovovivi- en ovipare nakomelingen van Artemia geproduceerd in nauwkeurige gecontroleerde kweeksystemen. I.W.O.N.L.-jaarverslag, 57 pp.

Lavina, E.;M. Figuerosa-1980

The use of decapsulated brine shrimp eggs as food for shrimp larvae. Seafdec Aquaculture Department Technical Paper, 10 pp.

Leach, W.E.-1819

Entomostraca: 524-543.

In: Dictionaire des sciences naturelles, Vol. 4.

Leger, Ph.;E. Naessens;P. Candreva;P. Sorgeloos-1983 a
Nutritional value of Artemia-nauplii fed on different inert diets for the mysid Mysidopsis bahia M.; importance of highly unsaturated fatty acid requirements, in prep.

Leger, Ph.;P. Sorgeloos-1981

International Study on Artemia. XXIX. Nutritional value of Artemia nauplii from various geographical origin for the mysid Mysidopsis bahia (Molenock).
In preparation.

Leger, Ph.;P. Vanhaecke;K.L. Simpson;P. Sorgeloos- 1983b
International Study on Artemia. XXV. Nutritional value of Artemia nauplii from suspected San Francisco Bay sources for the mysid Mysidopsis bahia (Molenock).
In preparation.

Lenanton, R.C.J.-1977

Fishes from the hypersaline water of the stromatolite zone of Shark Bay, Western Australia.
Copeia, 2:387-390.

Lenz, P.H.-1980

Ecology of an alkali-adapted variety of Artemia from Mono Lake, California: 79-96

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

- Linder, F.-1941
Contributions to the morphology and the taxonomy of the
Branchiopoda Anostraca.
Zool.Bidr.Upps.,20:101-302
- Lindsey, J.K.;A.M. Sandness-1972
Program for the analysis of non linear response surface.
Fish. Res. Bd. Canada. Techn. Rep., 311:145 pp.
- Linnaeus, C.-1758
Systema naturae.
Ed.X, Hafniae, 634 pp.
- Litchfield, J.-1949
A method for rapid graphic solution of time-percent effect
curves. J. Pharm. Exp. Ther., 97:388-408
- Litchfield, J.;Wilcoxon, F.-1949
A simplified method of evaluating dose-effect experiments
J. Pharm. Exp. ther., 96:99-113
- Little, G.-1969
The larval development of the shrimp Palaemon macrodactylus
Rathbun reared in the laboratory and the effect of eyestalk
extirpation on development.
Crustaceana,17:69-87
- Littlepage, J.L.;M.N. McGinley-1965
A bibliography on the genus Artemia (Artemia salina):
1812-1962.
Special Publication no.1, San Francisco Aquarium Society,
Inc., San Francisco, California (U.S.A.), 73 pp.
- Livingston, D.A.-1963
Chemical composition of rivers and lakes.
Geol. surv. Prof. Pap., 440 G, 64 pp.
- Löffler, H.-1961
Beitrage zur Kenntniss der Iranischen Binnengewasser.
II. Regional-Limnologische Studie mit besonderer
Berücksichtigung der Crustaceenfauna.
Int.Rev.ges.Hydrobiol.Hydrogr.,46:309-406
- Löffler, H.-1964
Vogelzug und Crustaceenverbreitung.
Zool.Anz.,27:311-316
- Lovegrove, T.-1966
The determination of the dry weight of plankton and the
effect of various factors in the values obtained:429-467.
In:Some contemporary studies in Marine Sciences. Ed.
Barnes, H., George Allen and Union Ltd., London, 716 pp.

Lozovsky, E.A.-1978

Reproduction of Artemia at various temperatures in the laboratory.

Rybnoye Khozyaistvo, 4:29-30

Ludskanova, J.-1974

Die Entwicklung von Artemia salina L. in den Teichen der Salzgarten von Burgas und Pomorije.

Arch.Hydrobiol., 74(4):473-478

Ludskanova, J.; L. Joshev-1972

Die Anzucht von Artemia salina L. als Nahrung für Pflanzenfresser.

Z.Binnenfischerei DDR, 19(6):177-181

Maciolek, J.A.-1962

Limnological organic analyses by quantitative dichromate oxidation.

Fish. Res. Rep. no 60:1-61.

MacDonald, G.-1980

The use of Artemia cysts as food by the flamingo (Phoenicopterus ruber roseus) and the shelduck (Tadorna tadorna) : 97-104

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Maddox, M.B.; J.J. Manzi-1976

The effects of algal supplements on static system culture of Macrobrachium rosenbergii (De Man) larvae: 677-698.

In: Proc. 7th Ann. Meeting WMS., Ed. Avault, J.W., jr.; Louisiana State University, Baton Rouge (LA-U.S.A.), 729 pp.

Manzi, J.J.; M.B. Maddox-1980

Requirements for Artemia nauplii in Macrobrachium rosenbergii (de Man) larviculture: 313-330

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Marchant, R.; W.D. Williams-1977

Organic content of some salina lake sediments in Western Victoria.

Aust.J.mar.Freshwat.Res., 28:269-275

Margalef, R.-1974

Ecologia.

Ediciones Omega, Barcelona (Spain), 951 pp.

Mason, D.T.-1963

The growth response of Artemia salina (L.) to various feeding regimes.

Crustaceana, 5:138-150

- Mason, D.T.-1967
Limnology of Mono Lake, California.
Univ.Calif.Publ.Zool.,83:1-110
- Mathias, P.-1937
Biologie des Crustaces Phyllopodes.
Act.Sci.Industr.,Biblio.Soc.Philo.,Paris,447:107pp.
- Mathias, P.;M. Bouat-1974
Sur le développement de l'oeuf de Branchipus stagnalis.
C.r.hebd.Seanc. Acad. Sci., Paris, 119:320-322
- Matsuoka, T.-1975
Culture of the giant prawn.
Yoshoku, 12:48-52
- Matthijs, J.-1981
Stageverslag, HTI Sint-Lieven, Gent, 40 pp.
- May, R.C.-1971 a
An annotated bibliography of attempts to rear the larvae of
marine fishes in the laboratory.
NOAA Techn.Rep.NMFS SSRF-632-24pp
- May, R.C.-1971 b
Effects of delayed initial feeding on larvae of the grunion,
Leuresthes tenuis (AYRES).
US Fish.Bull.,69(2):411-425
- Mayr, E.-1942
Systematics and the origin of species.
New York, Columbia University Press (USA), 797 pp.
- McCarraher, D.B.-1970
Some ecological relations of fairy shrimp in alkaline habitats
of Nebraska.
Am.Midl.Natur.,84(1):59-68
- Mc Carraher, D.B.-1972
A preliminary bibliography and lake index of the inland
mineral waters of the world.
FAO Fisheries Circular no 146, 33 pp.
- Mc Kenzie, K.G.-1981
Palaebiogeography of some salt lake faunas.
Hydrobiologia, 81-82:407-418.
- Mc Lean, S.-1980
The effect of cis-chlordane and dieldrin on the short
food chain: Artemia to winter flounder.
M.S Thesis, University of Rhode Island (USA)
- Meade, J.W.-1976
Advances in the intensive rearing of brine shrimp (Artemia
salina).
Thesis, The Pennsylvania State University, University Park,
(U.S.A.), 64 pp.

- Metalli, P.;E. Ballardin-1972
Radiobiology of Artemia: radiation effects and ploidy.
Current Topics in Radiation Research Quarterly, 7(2):181-240
- Miller, D.C.;W.H. Lang;M. Marcy;P. Clem;J. Pechenik-1979
International study on Artemia. Naupliar locomotory rates,
patterns and photoresponses: A comparative study of various
strains of Artemia salina : 91
In: Book of Abstracts. International Symposium on the Brine
Shrimp, Artemia salina, Corpus Christi (TX-U.S.A.), Aug.20-23,
1979; Artemia Reference Center, Ghent (Belgium), 137 pp.
- Mitchell, B.D.;M.C. Geddes-1977
Distribution of the brine shrimp Parartemia zietziana SAYCE
and Artemia salina (L.) along a salinity and oxygen gradient
in a South Australian saltfield.
Freshw.Biol., 7(5):461-468
- Moens, L.;M. Kondo-1976
The structure of Artemia salina hemoglobins. A comparative
characterization of four naupliar and adult hemoglobins.
Eur.J.Biochem., 67(2):397-402
- Monod, T.-1969
A propos du Lac des Vers ou Bahr ed-Dud.
Bull.Inst.fondam.Afr.noire(A), 31(1):25-41
- Moore, J.E.-1952
The entomostraca of southern Saskatchewan.
Can.J.Zool., 30:410-449
- Moore, W.G.;B.F. Faust-1972
Crayfish as possible agents of dissemination of fairy shrimp
into temporary ponds.
Ecology, 53(2):314-316
- Morris, J.E.-1971
Hydration, its reversibility, and the beginning of develop-
ment in the brine shrimp, Artemia salina.
Comp.Biochem.Physiol., 39A:843-857
- Morris, J.E.;B.A. Afzelius-1967
The structure of the shell and outer membranes in encyssted
Artemia salina embryos during cryptobiosis and development.
J.Ultrastruct.Res., 20:244-259
- Morris, R.W.-1956
Some aspects of the problem of rearing marine fishes.
Bull.Inst.oceanogr.Monaco, 1082, 61pp.
- Mura, G.;F. Accordi;M. Rampini-1978
Studies on the resting eggs of some fresh water fairy
shrimps of the genus Chirocephalus : biometry and scanning
electron microscopic morphology (Branchiopoda, Anostraca)
Crustaceana, 35(2):190-194.

Murai, T.;J.W. Andrews-1978

Comparison of feeds for larval stages of the giant prawn (Macrobrachium rosenbergii): 189-193.

In: Proc.9th.Ann.Meeting WMS, Ed. Avault, J.W.,jr., Louisiana State University, Baton Rouge (LA-U.S.A.), 807 pp.

Muramatsu, S.-1960

Studies on the physiology of Artemia embryos.I.Respiration and its main substrate during the early devepolment of the encysted embryo.

Embryologia,5(1):95-106

Nash, C.E.-1973

Automated mass-production of Artemia salina nauplii for hatcheries.

Aquaculture,2:289-298

Nash, C.E.-1974

Potential for the development of aquaculture in the Indo-Pacific region.

FAO Paper (Bangkok,Thailand), IPFC/74/Sym.12,1-11

Nash, C.E.-1977

Milkfish at Christmas. How a lonely Pacific Island could play a major role in fish farming development.

Fish Farming International,5(2):8-13

Nei, M.-1972

Genetic distance between populations

Amer. Natur., 106:283-292.

Nixon, S.-1969

Characteristics of some hypersaline ecosystems.

Thesis, University of North Carolina, Durham (NC-U.S.A.).

Diss.Abstr.31B:2806B-2807B

Nixon, S.W.-1970

A synthetic microcosm.

Limnol.Oceanogr.,14:142-145

Nose, T.-1983

Recent development in aquaculture in Japan.

In:Realism in aquaculture:achievements, constraints, perspectives. Eds. Bilio, M.;H. Rosenthal;G.J. Sindermann, in press.

Oleynikova, F.A.-1979

Ecology of Artemia salina in saline water bodies in the Azov and Black Sea Basins: 97.

In: Book of Abstracts. International Symposium on the Brine Shrimp, Artemia salina, Corpus Christi (TX-U.S.A.), Aug.20-23, 1979; Artemia Reference Center, Ghent (Belgium), 137 pp.

Oleynikova, F.A.;T.G.Pleskachevskaya-1979
Artemia salina as food in mariculture:35-38
In: Proc.7th Japan-Soviet Joint Symposium on Aquaculture,
Tokyo Sept. 1978. Ed. Yamamoto, G. Tokai University, Tokyo,
Japan, 254pp.

Olney, C.E.;P.S. Schauer;S. McLean;You Lu;K.L. Simpson-1980
International Study on Artemia. VIII. Comparison of the chlorinated
hydrocarbons and heavy metals in five different strains of
newly hatched Artemia and a laboratory-reared marine fish:343-352.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;
E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Olson, C.S.;J.S. Clegg-1976
Nuclear numbers in encysted dormant embryos of different
Artemia salina populations.
Experientia,32(7):864-865

Packard, A.S.A.-1883
A monograph of the Phyllopod Crustacea of North America,
with remarks of the order Phyllocardia.
Ann.Rep.U.S.Geol.Surv.,12:295-592

Paffenhofer, G.-A.-1967
Caloric content of larvae of the brine shrimp Artemia salina.
Helgolander wiss.Meeresunters.,16:130-135

Paine, R.T.-1964
Ash and caloric determinations of sponge and opisthobranch
tissues.
Ecology, 45(2):384-388.

Perez-Rodriguez, J.M.-1977
Desarrollo de la piscicultura en la region suratlantica. I.
Notas basicas para la transformacion de las salinas en
piscifactorias.
Plan de explotacion marisquera y cultivos marinos de la
region suratlantica, 44 pp.

Person-Le Ruyet, J.;A. Salaun-1977
Etude comparative des possibilites d'elevage larvaire de
quelques poissons marins avec une souche d'oeufs d'Artemia
salina de Chypre.
ICES-CM 32:13 pp.

Persoone, G.;P. Sorgeloos-1972
An improved separator box for Artemia nauplii and other
phototactic invertebrates.
Helgolander wiss.Meeresunters.,23:243-247.

Persoone, G.;P. Sorgeloos-1980
General aspects of the ecology and biogeography of Artemia: 3-24.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in
Aquaculture. Eds Persoone,G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;E. Jaspers.
Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Piccinelli, M.; T. Prosdocimi-1968

Descrizione tassonomica delle due specie Artemia salina L.
e Artemia persimilis n.sp.

Ist.Lombardo R.C., Bl02:113-118

Piccinelli, M.; T. Prosdocimi; L. Baratelli-Zambruni-1968

Ulteriori ricerche sull' isolamento genetico nel genere
Artemia.

Atti Ass.genet.ital., 13:170-179

Pillay, T.V.R.-1979

The state of aquaculture 1976: 1-10.

In: Advances in Aquaculture. Eds. Pillay, T.V.R.;

Wm.A. Dill. Fishing News Books Ltd, Farnham (U.K.), 653 pp.

Pillay, T.V.R.-1983

State of aquaculture 1981

In: Realism in Aquaculture: achievements, constraints,
perspectives. Eds. Bilio, M.; H. Rosenthal; C.J. Sindermann,
in press.

Planel, H.; Y. Blanquet; J.P. Soleilhavoup; R. Kaiser; B. Pianezzi-1975

Effects of cosmic heavy ions on Artemia egg development: 1152-1163.

In: Radiation Research: Biomedical, Chemical and Physical
Perspectives, Academic Press, New York (U.S.A.).

Por, F.D.-1968

Solar Lake on the shores of the Red Sea.

Nature, 218(5144):860-861

Por, F.D.-1969

Limnology of the heliothermal Solar Lake on the coast of Sinai
(Gulf of Elat).

Verh.int.Verein.theor.angew.Limnol., 17:1031-1034

Pora, E.A.-1962

Influenta factorilor osmitic si rapic aspura fixarii P32 de
catre Artemia salina din lacul techirghiol.

Acad.Rep.Popul.Romine Stud.Biol.Ser.Zool., 13:337-345

Pora, A.E.; F. Stoicovici; D. Rusdea; C. Wittenberger; H. Kolasovitch-
1960

La duree de survie et la consommation d'oxygene chez Idothea
baltica de la Mer Noire et chez Artemia salina du lac sursale
de Techirghiol en fonction du rapport ionique du milieu exterieur.
Rapp.Pr.Verb.Commiss.int.Expl.M.Med., 15(3):189-198

Post, F.J.-1977 a

The microbial ecology of the Great Salt Lake North arm: 8 pp.

In: "Desertic Terminal Lakes": Proceedings of the International
Conference on Desertic Terminal Lakes, Weber State College,
Ogden, Utah; Ed. Greer, D.C.; Utah Water Research Laboratory,
Logan, Utah (U.S.A.).

Post, F.J.-1977 b

The microbial ecology of the Great Salt Lake.
Microbial Ecology, 3(2):143-165

Post, F.J.-1980

Biology of the north arm.

In: Great Salt Lake. A scientific, historical and economic overview. Ed. Gwynn, J.W. Bull. 116, Utah geological and mineral survey, Salt Lake City, Utah, (USA)

Post, F.J.-1981

Microbiology of the Great Salt Lake north arm.
Hydrobiologia, 81-82:59-70

Prescott, S.R.-1980

Economics of Artemia nauplii use in aquaculture:175-180.

In: Proc. 11th Ann. Meeting WMS, Ed. Avault, J.W., jr.;
Louisiana State University, Baton Rouge (LA-USA), 611pp.

Price, S.-1967

Dimethyl sulfoxide : failure to penetrate encysted Artemia embryos.

Proc.Soc.exp.Biol.Med., 126:389-399

Proctor, V.W.-1964

Viability of crustacean eggs recovered from ducs.
Ecology, 45(3):656-658

Proctor, V.W.; C.R. Malone-1965

Further evidence of the passive dispersal of small aquatic organisms via the intestinal tract of birds.
Ecology, 46:728-729

Proctor, V.W.; C.R. Malone; V.L. Devlaming-1967

Dispersal of aquatic organisms : Viability of disseminules recovered from the intestinal tract of captive killdeer.
Ecology, 46(4):672-676

Provasoli, L.-1968

Media and prospects for the cultivation of marine algae.

In: Cultures and collection of Algae. Eds. Watanabe, A.;
A. Hattori.

Proc. U.S.-Japan Conf. Hakome, Sept. 1966. Jap. Soc. Plant
Physiol:63-75

Provasoli, L.-1969

Laboratory methods in cultivation: 225-398.

In: Marine Biology. Proc. 5th international interdisciplinary conference
on marine biology. Ed. Costlow, J.D. jr., Gordon & Breach,
New York (U.S.A.), 606 pp.

- Provasoli, L.-1977
Cultivation of animals. Research cultivation. Axenic cultivation:
1295-1319.
In: Marine Ecology, Vol.III. Cultivation-Part 3; Ed. Kinne, O.;
J. Wiley and Sons, New York (U.S.A.):579-1293
- Provasoli, L.;A.S. D'Agostino-1969
Development of artificial media for Artemia salina.
Biol.Bull.,136:434-453
- Provasoli, L.;K. Shiraishi;J.R. Lance-1959
Nutritional idiosyncrasies of Artemia and Tigriopus in
monoxenic culture.
Ann.N.Y.Acad.Sci.,77:250-261
- Provenzano, A.J.jr.;J.W. Goy-1976
Evaluation of a sulphate lake strain of Artemia as a food
for larvae of the grass shrimp, Palaemonetes pugio.
Aquaculture,9:343-350
- Purdom, C.E.;A. Preston-1977
A fishy business.
Nature,266:396-397
- Rabanal, H.R.-1974
The potentials of aquaculture development in the Indo
pacific Region.
FAO : SCS/74/WP/1:32 pp.
- Rackett, T.-1812
Observations on Cancer salinus.
Trans.Linn.Soc.Lond.,11:205-206
- Rakowicz, M.-1975
Notes on Artemia salina.
Prawn Farming Systems Techniques, June 25-Sept.5,1975, Food
Institute, East-West Center, Honolulu (U.S.A.), 13 pp.
- Ramamoorthi, K.;G.S. Thangaraj-1980
Ecology of Artemia in the salt ponds of Tuticorin (India):105-114
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;
E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Rammner, W.-1936
Zoologische Ergebnisse einer Reise nach Bonaire, Curacao und
Aruba im Jahre 1930. No.15. Artemia salina auf Bonaire, Curacao
und St. Martin.
Zool.Jb., Abteilung fur Systematik, Okologie und
Geographie der Tiere,67 (5/6):353-362

Rawson, D.S.;J.E. Moore-1944
The saline lakes of Saskatchewan.
Can.J.Res.,D22:141-201

Reed, P.H.-1969
Studies of diet and diet concentration effects on Dungeness
crab zoeae.
Proc.Natn.Shellfish Ass.,59:12

Reeve, M.R.-1963 a
The filter-feeding of Artemia. I. In pure culture of plant
cells.
J.exp.Biol.,40(1):195-205

Reeve, M.R.-1963 b
The filter-feeding of Artemia. II. In suspension of various
particles.
J.exp.Biol.,40(1):207-214

Reeve, M.R.-1963 c
Growth efficiency in Artemia under laboratory conditions.
Biol.Bull.,125(1):133-145

Reeve, M.R.-1969
The laboratory culture of the prawn Palaemon serratus.
Fishery Invest.,Lond.,Ser.II,26(1):38 pp.

Releya, G.M.-1937
The brine shrimp of Great Salt Lake.
Am.Nat.,71(737):612-616

Roberts, M.H.,jr.-1971
Larval development of Pagurus longicarpus Say reared in the
laboratory. II. Effects of reduced salinity on larval development.
Biol.Bull.,140:104-116

Roberts, M.H.,jr.-1974
Larval development of Pagurus longicarpus Say reared in the
laboratory. V. Effect of diet on survival and molting.
Biol.Bull.,146:67-77

Robin, J.H.-1982
Comparaison de deux methodes d'amelioration de la valeur
alimentaire d'Artemia salina pour nourrir des larves de
bar (Dicentrarchus labrax)
I.C.E.S. CM/F:13

Rooth, J.-1965
The flamingos in Bonaire (Netherlands Antilles). Habitat, diet
and reproduction of Phoenicopterus ruber ruber.
Uitgave Natuurwetenschappelijke Studiekring in Suriname en
de Nederlandse Antillen, Utrecht, no.41,171 pp.

- Rooth, J.-1976
Ecological aspects of the flamingos on Bonaire.
In: Ecology Conference on flamingos, oil pollution and reefs,
Sept. 75. Eds Sesan, E.A.V.; W. Booi; I. Kristensen; H.A.M. De
Kruijf. Netherlands Antilles National Parks Foundation "STINAPA"
no. 11, Curacao.
- Rosenthal, H.-1969
Verdauungsgeschwindigkeit, Nahrungswahl und Nahrungsbedarf bei
den Larven des Herings, Clupea harengus L.
Ber.d.wiss.Kommn.Meeresforsch., 20:60-69
- Rosenthal, H.-1978
Bibliography on transplantation of aquatic organisms and
its consequences on aquaculture and ecosystems.
Special Publication no. 3, European Mariculture Society,
Eds. Jaspers, E.; G. Persoone. Institute for Marine
Scientific Research, Bredene (Belgium), 147 pp.
- Rotti, A.-1972
Biometrie
Fakulteit van de landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit
Gent, 230 pp.
- Rotti, A.-1972
Statistiek
Fakulteit van de landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit
Gent.
- Royan, J.P.-1975
Influence of salinity and temperature on the hatching of the
brine shrimp, Artemia salina.
Mahasagar, 8(3,4):183-185
- Royan, J.P.-1976
Effect of light on the hatching and growth of Artemia salina
Mahasagar, 9(1,2):83-85
- Royan, J.P.-1979
Occurrence of Artemia sp. in the gulf of Kutch.
Mahasagar, 12(4):271-272
- Royan, J.P.-1980
Laboratory and field studies on an Indian strain of the brine
shrimp Artemia: 223-230.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels;
E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456pp.
- Royan, J.P.-1981
Brine shrimp culture:46-60.
In: Status report on Coastal Aquaculture in India.
National Institute of Oceanography, Dona Paula,
Goa-403004 India, 136 pp.

Royan, J.P.;P. Navaneethakrishnan;A.M. Selvaraj-1970
Occurrence of Artemia salina in southern India.
Curr.Sci.,39(1):14

Royan, J.P.;M.V.M. Wafar;S. Vijayaraghavan-1978
The brine shrimp, Artemia salina and its culture potential
in India.
Indian J.Mar.Sci.,7(2):116-119

Russler, D.;J. Mangos-1978
Micropuncture studies of the osmoregulation in the nauplius of
Artemia salina.
Am.J.Physiol.,234(5):216-222

Sakomoto, M.;D.L. Holland;D.A. Jones-1982
Modification of the nutritional composition of Artemia
by incorporation of polyunsaturated fatty acids using micro
encapsulated diets.
Aquaculture, 28:311-320

Salser, B.R.;C.R. Mock-1974
Equipment used for the culture of larval penaeid shrimp
at the National Marine Fisheries Service Galveston Laboratory.
Paper presented at the "V Congreso Nacional de Oceanografia",
Mexico: 15 pp.

Sandifer, P.A.;J.E. Williams-1980
Comparison of Artemia nauplii an non-living diets as food for
larval grass shrimp, Palaemonetes spp. : screening experiments :
353-364.
In:The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use
in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels;
E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

San Francisco Bay Brand-1979
Hatch-test method for San Francisco Bay Brand cysts
San Francisco Bay Brand, Newark (USA)

Sarasquete Reiriz, M. del C.-1979
Estudio de los quistes de Artemia salina de las salinas de Cadiz
Thesis, University of Santiago de Compostela (Spain), 67 pp.

Sato, N.L.-1966
Excystment of the egg of Artemia salina in artificial sea-
water of various conditions.
Gunma J.med.Sci.,15(2):102-112

Sato, N.L.-1967
Enzymatic contribution to the excystment of Artemia salina.
Sci.Rep.Tohoku Univ.,33(3-4):319-327

- Scelzo, M.A.;J.F. Voglar-1980
Ecological study of the Artemia populations in Boca Chica salt lake, Margarita Island, Venezuela:115-126
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Schauer, P.S.;D.M. Johns;C.E. Olney;K.L. Simpson-1980
International Study on Artemia. IX. Lipid level, energy content and fatty acid composition of the cysts and newly hatched nauplii from five geographical strains of Artemia:365-373.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.
- Schlosser, D.-1756
Extrait d'une lettre de Monsieur le Docteur Schlosser concernant un insecte peu connu.
Observations periodiques sur la physique, l'histoire naturelle et les beaux arts de Gautier:58-60.
- Schmankewitsch, W.J.-1875
Ueber das Verhaltniss der Artemia salina Miln. Edw. zur Artemia Mulhauseni Miln. Edw. und dem Genus Branchipus Schaeff.
Z.wiss.Zool.,25,(Supplement):103-116
- Schmidt-Nielsen, B.-1974
Osmoregulation: effect of salinity and heavy metals.
Fedn Proc.Fedn Am.Socs exp.Biol.,33(10):2137-2146
- Scott, A.P.;C.Middleton-1979
Unicellular algae as a food for turbot (Scophthalmus maximus L.) larvae - the importance of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids
Aquaculture, 18:227-240
- Seidel, C.R.;D.M. Johns;P.S. Schauer;C.E. Olney-1982
International Study on Artemia.XXVI. Food value of nauplii form Reference Artemia Cysts and four geographical collections of Artemia for mud crab larvae.
Mar. Ecol. Prog. Ser., 8: 309-312
- Seidel C.R.;J. Kryznovek;K.L. Simpson-1980
International Study on Artemia.XI. Amino acid composition and electrophoretic protein patterns of Artemia from five geographical locations: 375-382.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium),456 pp.

Shelbourne, J.E.-1968

The culture of marine fish larvae with special reference to the plaice (Pleuronectes platessa) and the sole (Solea solea). Thesis, London University, 143 pp.

Shelbourne, J.E.-1975

Marine fish cultivation : pioneering studies on the culture of the larvae of plaice and sole.
Fish. Invest. Ser. II, 27(9):1-29

Sick, L.V.-1976

Nutritional effect of five species of marine algae on the growth, development, and survival of the brine shrimp Artemia salina.
Mar.Biol., 35:69-78

Sick, L.V.;H. Beaty-1974

Culture techniques and nutrition studies for larval stages of the giant prawn, Macrobrachium rosenbergii.
Georgia Marine Science Center, University System of Georgia, Skidaway Island, Georgia, Technical Report Series, no.74-5:30pp.

Simon, E.-1886

Etudes sur les crustacés du sous-ordre des Phyllopoètes.
Annls Soc.ent.Fr., 6:393-460

Simpson, K.L.;A.D. Beck;P. Sorgeloos-1980

Report Workshop I. Characterization of Artemia strains for application in aquaculture:409-411.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds. Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels; E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 456pp.

Simpson, K.L.;G. Klein-Mac Phee;A.D. Beck-1983

Zooplankton as a food source.
Paper presented at the Delaware Conference on Nutrition, in press.

Sindermann, C.J.-1979

Aquatic animal protein food resources - actual and potential.
Paper presented at the Congressional Roundtable on World Food and Population, June 26, Washington (USA)

Skoultchi, A.I.;H.J. Morowitz-1964

Information storage and survival of biological systems at temperatures near absolute zero.
Yale J.Biol.Med., 37:158-163

Slobodkin, L.B.-1968

Aspects of the future of ecology
Biol. Sci., Tokyo, 18:16-23

- Slobodkin, L.B.; S. Richman-1961
Calories gm. in species of animals.
Nature, 191(4785):299
- Smith, C.W.; S.M. Siegel-1975
Differential permeation of Artemia cysts and cucumber seeds by alcohols.
J. Histochem. Cytochem., 23(1):80-83
- Smith, T.I.J.; J.S. Hopkins; P.A. Sandifer-1978
Development of a large-scale Artemia hatching system utilizing recirculated water: 701-714.
In: Proc. 9th Ann. Meeting WMS, Ed. Avault, J.W., jr., Louisiana State University, Baton Rouge, (LA-U.S.A.), 807 pp.
- Smith, W.E.-1975
Breeding and culture of 2 sunfish Lepomis cyanellus and Lepomis megalotis in the laboratory.
Progve Fish Cult., 37(4):227-229
- Smith, W.E.-1976
Larval feeding and rapid maturation of bluegills in the laboratory.
Progve Fish Cult., 38(2):95-97
- Snedecor, G.W.; W.G. Cochran-1967
Statistical Methods.
The Iowa State University Press, Ames, 593 pp.
- Snow, D.W. (Ed)-1978
An atlas of speciation in African Non-Passerine birds.
Scolar Press Ltd., West Yorkshire (Great Britain)
- Soeder, C.J.-1980
The scope of microalgae for food and feed : 9-20
In: Algae biomass production and use. Eds Shelef, G.; C.J. Soeder Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam (The Netherlands), 852 pp.
- Soejima, T.; T. Katayama; K.L. Simpson-1980
International Study on Artemia. XII. The carotenoid composition of eight geographical strains of Artemia and the effect of diet on the carotenoid composition of Artemia: 613-622.
In: The Brine Shrimp Artemia. Vol. 2. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels; E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 664 pp.
- Sokal, R.R.; F.J. Rohlf-1969
Biometry
W.A. Freeman Co., San Francisco, California, 776 pp.
- Sorgeloos, P.-1973
First report on the triggering effect of light on the hatching mechanism of Artemia salina dry cysts.
Mar. Biol., 22:75-76

Sorgeloos, P.-1975

De invloed van abiotische en biotische factoren op de levens-
cyclus van het pekelkreeftje, Artemia salina L.
Thesis, Rijksuniversiteit Gent, 235 pp.

Sorgeloos, P.-1977

Occurrence of Artemia in nature and its morphological development
from nauplius to adult: 1-7.

In: Fundamental and applied research on the brine shrimp, Artemia
salina (L.) in Belgium. EMS Special Publication No. 2. Eds
Jaspers, E;G. Persoone; Institute for Marine Scientific Research,
Bredene

Sorgeloos, P.-1978

The culture and use of brine shrimp Artemia salina as food for
hatchery raised larval prawns, shrimp and fish in South East
Asia.

FAO Report THA/75/008/78/WP3, 50 pp.

Sorgeloos, P.-1979 a

The Brine Shrimp, Artemia salina: A Bottleneck in Mariculture:
321-324.

In: FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, 1976. Eds
Pillay, T.V.R.; Wm.A. Dill. Fishing News Books Ltd., Farnham
(England), 653 pp.

Sorgeloos, P.-1979 b

Het gebruik van het pekelkreeftje Artemia spec. in de
aquakultuur.

Thesis, Rijksuniversiteit Gent (Belgium), 319 pp.

Sorgeloos, P.-1979 c

List of commercial harvesters-distributors of Artemia cysts
of different geographical origin.

Aquaculture, 16:87-88

Sorgeloos, P.-1980 a

The use of the brine shrimp Artemia in aquaculture: 25-46.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in
Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; E. Jaspers;
Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Sorgeloos, P.-1980 b

Availability of Reference Artemia Cysts.

Mar.Ecol.Prog.Ser., 3(4):363-364

Sorgeloos, P.-1981

Availability of Reference Artemia Cysts.

Aquaculture, 23:381-382

Sorgeloos, P.-1983

Live Animal food for larval rearing in aquaculture: the
brine shrimp Artemia.

In: Realism in Aquaculture: achievements, constraints,
perspectives. Eds. Bilio, M.; H. Rosenthal; C.J. Sindermann,
in press.

- Sorgeloos, P.; M. Baeza-Mesa; F. Benijts; G. Persoone-1976
Current research on the culturing of the brine shrimp Artemia salina L. at the State University of Ghent, Belgium: 473-495.
In: Proc. 10th European Symposium on Marine Biology, Vol. 1.
Research in mariculture at laboratory and pilot scale.
Eds Persoone, G.; E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 620 pp.
- Sorgeloos, P.; M. Baeza-Mesa; E. Bossuyt; E. Bruggeman; J. Dobbeleir; D. Versichele; E. Lavina; A. Bernardino-1980
The culture of Artemia on ricebran: the conversion of a waste-product into highly nutritive animal protein.
Aquaculture, 21:393-396
- Sorgeloos, P.; E. Bossuyt; E. Bruggeman; A. Cooreman; J. Dobbeleir; P. Vanhaecke; D. Versichele-1979
Progress report on the research activities of the Artemia Reference Center.
ICES C.M./F:54, 206-214
- Sorgeloos, P.; E. Bossuyt; E. Lavina; M. Baeza-Mesa; G. Persoone-1977
Decapsulation of Artemia cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture.
Aquaculture, 12(4):311-315
- Sorgeloos, P.; M. De Boodt-1982
ABOS verslag - identifikatiezending Peru, 41 pp.
- Sorgeloos, P.; G. Persoone-1975
Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans. II. Hatching and culturing of the brine shrimp, Artemia salina L.
Aquaculture, 6:303-317
- Sorgeloos, P.; G. Persoone; M. Baeza-Mesa; E. Bossuyt; E. Bruggeman-1978 a
The use of Artemia cysts in aquaculture: the concept of "hatching efficiency" and description of a new method for cyst processing: 715-721.
In: Proc. 9th Ann. Meeting WMS. Ed. Avault, J.W., jr. Louisiana State University, Baton Rouge (LA-U.S.A.), 807 pp.
- Sorgeloos, P.; C. Remiche-Van der Wielen; G. Persoone-1978 b
The use of Artemia nauplii for toxicity tests - a critical analysis.
Ecotoxicology and environmental Safety, 2:249-255
- Spectorova, L.V.; A.M. Syomik-1979
The influence of incubation conditions upon Artemia hatching efficiency in three strain models: 121.
In: Book of Abstracts. International Symposium on the Brine Shrimp, Artemia salina, Corpus Christi (TX-U.S.A.), Aug. 20-23, 1979; Artemia Reference Center, Ghent (Belgium), 137 pp.

Spitchak, M.K.-1980

Artemia in the U.S.S.R.:127-128

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds. Persoone, G.;P. Sorgeloos;O.A. Roels; E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Spotte, S.-1979

Seawater aquariums

John Wiley & sons, New York, 413 pp.

Steel, R.G.;J.H. Torrie-1960

Principles and procedures of statistics with special reference to biological sciences.

Mc. Graw. Hill Book. Co., New York, 481 pp.

Stefani, R.-1964

L'origine dei maschi nelle popolazione parthenogenetiche di Artemia salina.

Riv.Biol.,57:147-162

Stella, E.-1933

Phaenotypical characteristics and geographical distribution of several biotypes of Artemia salina L.

Z.indukt.Abstamm.-u.Vererbungslehre,65:412-446

Stephens, D.W.-1974

A summary of biological investigations concerning the Great Salt Lake, Utah (1861-1973).

Gt Basin Nat.,34 (3):221-229

Stephens, D.W.;D.M. Gillespie-1972

Community structure and ecosystem analysis of the Great Salt Lake: 66-72.

In: The Great Lake and Utah's Water Resources. Ed. Riley, J.P.; Utah Water Res. Lab., Utah State University

Stephens, D.W.;D.M. Gillespie-1976

Phytoplankton production in the Great Salt Lake, Utah, and a laboratory study of algal response to enrichment.

Limnol.Oceanogr.,21(1):74-87

Struksaker, J.W.,; M.B.Eldridge;T. Echeverria-1974

Effects of benzene on eggs and larvae of pacific herring and northern anchovy.

Pollut. Physiol. Mar. Org., 10:253-284.

Tabb, D.C.;W.T. Yang;Y. Hirono;J. Heinen-1972

A manual for culture of pink shrimp, Penaeus duorarum, from eggs to postlarvae suitable for stocking.

University of Miami Sea Grant Program - NOAA Sea Grant No. 2-35147 - Sea Grant Special Bulletin No.7:59 pp.

- Tacon, A.G.J.; G.B. Cowey-1983
Fish nutrition - relevance to invertebrates.
World mariculture Society Special Publication no. 2,
in press.
- Takeuchi, T., T. Watanabe - 1977
Requirement of carp for essential fatty acids.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43(5):541-551
- Tazawa, E.; Y. Iwanami-1974
Hatching of brine shrimp eggs (Artemia salina) soaked in
organic solvents.
Zool. Mag. Zool. Soc. Jap., 83(3):267-269
- Teramoto, K.; S. Kinoshita-1961
Some informations on the culture of Artemia (in Japanese,
English abstract).
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 27(8):801-804
- Tornthwaite, C.W.-1948
An approach toward a rational classification of climate.
Geogr. Rev., 38:55-94
- Thornthwaite, C.W.; J.R. Mather-1955
The water balance.
Publ. in Climatology, VIII(1):1-104.
- Thornthwaite, C.W.; J.R. Mather-1957
Instruction and tables for computing potential evapo-
transpiration and the water balance.
Publ. in Climatology, XI(3):185-311
- Tornthwaite associates, C.W.-1962
Average climatic water balance data of the continents.
Part I. Africa.
Publ. in Climatology, XV(3):401-582
- Thornthwaite associates, C.W.-1963 a
Average climatic water balance data of the continents.
Part II. Asia.
Publ. in Climatology, XVI(1):1-266
- Thornthwaite associates - C.W.-1963 b.
Average climatic water balance data of the continents
Part III. U.S.S.R.
Publ. in Climatology, XVI(2):267-382
- Thornthwaite associates, C.W.-1963 c.
Average climatic water balance data of the continents.
Part IV. Australia, New Zealand and Oceania.
Publ. in Climatology, XVI(3):383-476

Thornthwaite associates, C.W.-1964 a.
Average climatic water balance data of the continents.
Part V. Europe.
Publ. in Climatology, XVII(1):1-228

Thornthwaite associates, C.W.-1964 b.
Average climatic water balance data of the continents.
Part VI. Central America.
Publ. in Climatology, XVII(2):229-414

Thornthwaite associates, C.W.-1964 c
Average climatic water balance data of the continents.
Part VII. United States.
Publ. in Climatology, XVII(3):415-615

Thornthwaite associates, C.W.-1965
Average climatic water balance data of the continents.
Part VIII. South America.
Publ. in Climatology, XVIII(2):293-426

Thorpe, J.E.; Wankowski, J.W.J.-1979
Feed presentation and food particle size for juvenile
atlantic salmon, Salmo salar L.:501-513
In: Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Vol I.
Eds. Halver, J.E.; K. Tiews. Heenemann Verlagsgesellschaft
mbH & Co, Berlin (F.R.G.), 593 pp.

Times Atlas of the World-1958
Vol. I-V. Ed. J. Bartholomew
The Times Publishing Company, Ltd, London

Tobias, W.J.; P. Sorgeloos; E. Bossuyt; O.A. Roels-1979
The technical feasibility of mass-culturing Artemia salina
in the St. Croix "Artificial Upwelling" Mariculture System:203-214
In: Proc. 10th Ann. Meeting WMS. Ed. Avault, J.W., jr.
Louisiana State University, Baton Rouge (LA-U.S.A.), 899 pp.

Tobias, W.J.; P. Sorgeloos; O.A. Roels; B.A. Sharfstein-1980
International Study on Artemia. XIII. A comparison of production
data of 17 geographical strains of Artemia in the St. Croix Artificial
Upwelling-Mariculture System:383-392.
In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in
Aquaculture. Eds Persoone, G.; P. Sorgeloos; O. Roels; E. Jaspers;
Universa Press, Wetteren (Belgium), 456 pp.

Ucal, O.-1979
Artemia salina (L.) collected from Camalti Saltern (Izmir) and
its use as a nutrient material in fish culture.
Rapp. Commn int. Mer Medit., 25/26(8):127-128

University Atlas-1972
Eds. Fulland H.; H.C. Darby, George Philip & son, London

Urbani, E.-1959

Protidi, glucidi e lipidi nello sviluppo di Artemia salina Leach.

Acta Embryol.Morph.exp.,2:171-194

Usher, R.R.II;D.A. Bengtson-1981

International Study on Artemia. XXIII. Studies on the survival and growth of sheepshead minnow (Cyprinodon variegatus) larvae and juveniles in laboratory culture.

Prof. Fish.Cult.,43(2):102-105

Van der Meer Mohr,C.G.-1977

Field trip to the salinas of Bonaire

Guide to geological excursions on Curacao, Bonaire and Aruba. Stimapa, Docum. ser. 2. Netherl. Antilles Nat Parks Found.:76-87

Van der Wind, J.J.-1979

Feeds and feeding in fry and fingerling culture:59-72

In:Eifac Workshop on mass rearing of fry and fingerlings of freshwater fishes. Paper no 35, suppl 1. Eds. Huisman E.A.;H. Hogendoorn ; Ministry of Agriculture and Fisheries, The Hague (The Netherlands), 202 pp.

Vanhaecke, P.;A. Cooreman-1979

Vergelijkende studie van de geografische rassen van het pekelkreeftje, Artemia salina (L.).

Jaarverslag F.K.F.O. 2.0010.78,51 pp.

Vanhaecke, P.;G. Persoone;C. Claus;P. Sorgeloos-1980

Research on the development of a short term standard toxicity test with Artemia nauplii: 263-286.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos; O. Roels;E. Jaspers. Universa Press, Wetteren (Belgium), 345 pp.

Van Stappen, G.-1981

Ontwikkeling van een gestandaardiseerde techniek voor de evaluatie van landbouwprodukten als voedselbron voor het pekelkreeftje, Artemia.

Thesis, Rijksuniversiteit Gent, 149 pp.

Versichele, D.;P. Sorgeloos-1980

Controlled production of Artemia cysts in batch cultures:231-246.

In: The brine shrimp Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone, G.;P. Sorgeloos;O. Roels;E. Jaspers; Universa Press, Wetteren (Belgium), 456pp.

Von Hentig, R.-1970

Einfluss von Salzgehalt und Temperatur auf Entwicklung, Wachstum, Fortpflanzung und Energiebilanz von Artemia salina. Thesis, University of Hamburg (Germany), 136 pp.

Von Hentig, R.-1971

Einfluss von Salzgehalt und Temperatur auf Entwicklung, Wachstum, Fortpflanzung und Energiebilanz von Artemia salina.

Mar.Biol.,9:145-182

Von Lukowicz, M.-1979

Experiments on first-feeding of carp fry with Alevon and freeze-dried fish: 94-102.

In: EIFAC workshop on mass rearing of fry and fingerlings of fresh water fishes. Eds Huisman, E.A.;H. Hogendoorn. EIFAC Techn.Paper No.35 Suppl.1, 202pp.

Voronov, P.M.-1973 a

Seasonal abundance and biomass of Artemia salina and its eggs in saline lakes of the Crimea (in russian, english summary).

In:Problems of rational marine fisheries and reproduction of marine fish and shellfish. Proceedings of the All-Union Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography (VNIRO),94:170-178

Voronov, P.M.-1973 b

Methods of stocking up eggs of Artemia salina and their purification (in russian, english summary).

In:Problems of rational marine fisheries and reproduction of marine fish and shellfish. Proceedings of the All-Union Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography (VNIRO),94:179-181

Voronov, P.M.-1973 c

Observations on reproduction of Artemia salina in water bodies of Crimea (in russian, english summary).

Zool.Zh.,52(6):945-947

Voronov, P.M.-1974

Influence of temperature upon viability of Artemia salina eggs. (in russian, english summary).

Zool.Zh.,53(4):546-550

Vos, J.;N.L. de la Rosa-1980

Manual on Artemia production in salt ponds in the Philippines.

FAO/UNDP-BFAR Project Manual. PHI/75/005/WP6, 48 pp.

Vos, J.;Ph. Leger;P. Vanhaecke;P. Sorgeloos-1983

Quality evaluation of brine shrimp Artemia produced in Asian salt ponds.

Hydrobiologia, in press

Vos, J.;A. Tansutapanit-1979

Detailed report on Artemia cysts inoculation in Bangpakong, Chachoengsao Province.

FAO/UNDP Field Document. THA/75/008/54pp.

- Walker, D.W.-1962
Notes on the habitat of Ephydra gracilis (Ephydridae, Diptera) and Artemia salina (Order Anostraca, Class Crustacea).
Carib.J.Sci., 2(1):13-21
- Walker, K.F.-1974
The stability of meromictic lakes in Central Washington
Limnol. Oceanogr. 19(2):209-222.
- Walker, K.F.-1981
A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer Brachionus plicatilis. Muller 1786.
Hydrobiologia, 81-82:159-168.
- Walne, P.R.-1967
The food value of 13 different species of unicellular algae to Artemia salina.
ICES-CM E5, 7 pp.
- Wankowski, J.W.J.; J.E. Thorpe-1979
The role of food particle size in the growth of juvenile atlantic salmon (Salmo Salar L.)
J. Fish. Biol., 14:351-370
- Watanabe, T.-1979
Nutritional quality of living feeds used in seed production of fish:49-57.
In: Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symposium on Aquaculture, Tokyo Sept. 1978. Ed. Yamamoto, G. Tokai University, Tokyo, Japan, 254pp.
- Watanabe, T.; T. Arakawa; C. Kitajima; S. Fujita-1978a
Nutritional evaluation of proteins of living feeds used in seed production of fish.
Bull.Jap.Soc.scient.Fish., 44(10):985-988
- Watanabe, T.; T. Arakawa; C. Kitajima; K. Fukusho; S. Fujita-1978b
Nutritional quality of living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish.
Bull. Jap. Soc. scient. Fish., 44(11):1223-1227
- Watanabe, T.; T. Arakawa; C. Kitajima; K. Fukusho; S. Fujita-1978 c
Proximate and mineral compositions of living feeds used in seed production of fish.
Bull.Jap.Soc.scient.Fish., 44(9):979-984
- Watanabe, T.; F. Oowa; C. Kitajima; S. Fujita-1978 d
Nutritional quality of brine shrimp, Artemia salina, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish.
Bull.Jap.Soc.scient.Fish., 44(10):1115-1121

Watanabe, T.;F. Oowa;C. Kitajima;S.Fujita-1980
Nutritional studies in the seed production of fish. IX.
Relationship between dietary value of brine shrimp Artemia salina
and their content of w3 highly unsaturated fatty acids.
Bull.Jap.Soc.scient.Fish..46:35-41

Watanabe, T.;O. Utsue;I. Kobayashi-1975
Effect of dietary methyl linoleate and linolate on growth
of carp. I.
Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.,41(2):257-262.

Weast, R.C. (Ed)-1973
Handbook of Chemistry and Physics, 54th edition.
C.R.C. Press, Cleveland, Ohio (USA)

Whitaker, D.M.-1940
The tolerance of Artemia cysts for cold and high vacuum.
J.exp.Zool.,83:391-399

Wickins, J.F.-1970
The food value of the brine shrimp (Artemia salina L.) to
larvae of the prawn (Palaemon serratus Pennant).
ICES CM/E6:8 pp.

Wickins, J.F.-1972
The food value of the brine shrimp, Artemia salina L., to
larvae of the prawn, Palaemon serratus Pennant.
J.exp.mar.Biol.Ecol.,10:151-170

Willason, S.W.-1978
Report of Artemia salina (L.) (Branchiopoda) in Santa Barbara
County, California, U.S.A.
Crustaceana,35(2):222-223

Williams, W.D.-1972
The uniqueness of salt lake ecosystems : 349-361
In:Proceedings of the IBP-UNESCO Symposium on Productivity
Problems of Freshwaters, Kazimierz Dolny, Poland, May 6-12,
1970, Eds Kajak, Z.;A. Hillbricht-Ilkowska;Warszawa-Krakow

Williams, W.D.-1981 a.
Inland salt Lakes : an introduction.
Hydrobiologia, 81-82:1-14.

Williams, W.D. 1981 b
The limnology of saline lakes in Western Victoria: a review
of some recent studies.
Hydrobiologia, 81-82:233-260

Wirick, C.D.-1972
Dunaliella - Artemia plankton community of the Great Salt
Lake, Utah.
Thesis, University of Utah (U.O

Woodbury, A.M.-1949
Animals and salinity in the Great Basin.
Am.Nat., 82:171-187

Zahl, P.A.-1967
Life in a "dead" sea - Great Salt Lake.
Natn.Geogr.Mag., 132(2):252-263

